



Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias  
Médicas y Quirúrgicas

**Traslocación bacteriana e inflamación como  
causa de aterosclerosis subclínica en  
pacientes con infección VIH con buen  
control virológico**

**Doctorando:**

Rafael Antonio León Allocca

**Directores de tesis:**

Dr. Joaquín Portilla Sogorb

Dr. Sergio Reus Bañuls

Universidad Miguel Hernández de Elche

2021



Esta Tesis Doctoral titulada “Traslocación bacteriana e inflamación como causa de aterosclerosis subclínica en pacientes con infección VIH con buen control virológico”, ha sido realizada bajo la modalidad de compendio de publicaciones:

Publicación:

- León R, Reus S, López N, Portilla I, Sánchez-Payá J, Giner L, Boix V, Merino E, Torrús D, Moreno-Pérez Ó, Portilla J. Subclinical atherosclerosis in low Framingham risk HIV patients. *Eur J Clin Invest.* 2017 Aug;47(8):591-599. doi: 10.1111/eci.12780. PMID: 28664622.
- *European Journal of Clinical Investigation* (ISSN; 0014-2972). JCR Factor de impacto (2017) 3,086. Posición 32 de 154 (79,7% - Q1) en la categoría "Medicine, General & Internal" y posición 57 de 133 (57,5% - Q2) en la categoría "Medicine, Research & Experimental" (SCIE).

Para la publicación del artículo se siguieron las normas éticas correspondientes al centro donde se desarrolló el trabajo, y en ningún caso el autor ni los coautores tuvieron conflicto de intereses en la elaboración del mismo.



El Dr. D. Joaquín Portilla Sogorb, director, y el Dr. D. Sergio Reus Bañuls, codirector de la tesis doctoral titulada “Traslocación bacteriana e inflamación como causa de aterosclerosis subclínica en pacientes con infección VIH con buen control virológico”

INFORMAN:

Que D. *Rafael Antonio León Allocca* ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “Traslocación bacteriana e inflamación como causa de aterosclerosis subclínica en pacientes con infección VIH con buen control virológico” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo con el Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos para los efectos oportunos, en Alicante a 15 de Diciembre de 2021.

Dr. D. Joaquín Portilla Sogorb.

Director de la tesis

Dr. D. Sergio Reus Bañuls

Codirector de la tesis



El Dr. D. Vicente Francisco Gil Guillén, Coordinador del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

INFORMA:

Que D. *Rafael Antonio León Allocca* ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “Traslocación bacteriana e inflamación como causa de aterosclerosis subclínica en pacientes con infección VIH con buen control virológico” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo con el Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmo para los efectos oportunos, en Alicante a 15 de Diciembre de 2021.

Prof. Dr. D. Vicente Francisco Gil Guillén

*Coordinador del Programa de Doctorado en Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas*

# Agradecimientos

A todos los participantes de este trabajo, por su contribución invaluable y voluntaria en la investigación clínica de la infección por VIH.

A mis directores de tesis, quienes, con sus amplios conocimientos, gran capacidad de trabajo e incalculable ayuda, han sido los pilares fundamentales para realizar este proyecto:

- Al Dr. Sergio Reus, por ver potencial y confiar en mí desde el primer momento. Gracias por darme la oportunidad de llevar a cabo este gran proyecto; por tus consejos, paciencia, dedicación y total implicación en cada uno de los pasos de esta investigación, por animarme en la recta final. Excelente profesional y mejor compañero.

- Al Dr. Joaquín Portilla, quien, con su amplia experiencia profesional y su gran calidad humana, ha guiado mis pasos durante todo el programa de doctorado y en la realización de esta tesis. Ha sido un gran honor para mí.

A todo el personal de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario de Alicante, en especial, a Irene, Livia y Marcos por su colaboración e implicación en este proyecto. Al Dr. Vicente Boix por sus acertadas aportaciones en la realización de este trabajo.

Al Dr. Nicolás López, por su gran colaboración en la realización de las ecografías carotídeas de todos los pacientes incluidos en el estudio.

Al Dr. José Sánchez Payá, por su importante ayuda en el análisis estadístico de este trabajo.

A mis padres, por su apoyo incondicional en cada una de mis metas. A pesar de la distancia, siempre están presentes en mí día a día.

A mi esposa Daniela y mis hijas Natalia y Laura, quienes son mi motivación para intentar cada día ser mejor persona y profesional.

## Abreviaturas

<b>ACC</b>	Arteria carótida común.
<b>ACI</b>	Arteria carótida interna.
<b>ACV</b>	Accidente Cerebrovascular
<b>ADA</b>	<i>American Diabetes Association</i>
<b>CDC</b>	<i>Centers for Disease Control.</i>
<b>CMV</b>	Citomegalovirus
<b>CoRIS</b>	Cohorte de la Red de Investigación en SIDA.
<b>CT</b>	Colesterol total.
<b>CVP-VIH</b>	Carga viral plasmática del VIH
<b>DS</b>	Desviación estándar.
<b>DM-2</b>	Diabetes mellitus tipo 2.
<b>DNA</b>	Acido desoxirribonucleico
<b>DNAr</b>	Ácido desoxirribonucleico ribosómico
<b>ECV</b>	Enfermedad cardiovascular.
<b>FEVI</b>	Fracción de Eyección del Ventrículo Izquierdo.
<b>FRCV</b>	Factor(es) de riesgo cardiovascular.
<b>GeSIDA</b>	Grupo de estudio de Sida
<b>GIMC</b>	Grosor de la íntima-media carotídea.
<b>HDL</b>	<i>High Density Lipoprotein Cholesterol</i> (colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad).
<b>HOMA-IR</b>	Índice de resistencia a la insulina ("homeostatic model assessment")
<b>HSH</b>	Hombres que tienen sexo con hombres
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial.
<b>IAM</b>	Infarto Agudo de Miocardio.
<b>IC</b>	Intervalo de confianza
<b>ICC</b>	Índice cintura cadera
<b>IL 6</b>	Interleuquina 6
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal.
<b>INI</b>	Inhibidores de la integrasa.
<b>IP</b>	Inhibidores de la proteasa.
<b>ITB</b>	Índice tobillo-brazo
<b>ITIAN</b>	Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótido.

<b>ITINAN</b>	Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos.
<b>LDL</b>	<i>Low-Density Lipoprotein Cholesterol</i> (colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad).
<b>LBP</b>	Proteínas de unión a lipopolisacárido
<b>LPS</b>	Lipopolisacárido
<b>MALT</b>	<i>Mucosa associated lymphoid tissue</i> (tejido linfoide asociado a la mucosa)
<b>MVC</b>	Maraviroc
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud.
<b>OR</b>	Odds Ratio
<b>PCR</b>	Proteína C reactiva.
<b>PET</b>	<i>Positron Emission Tomography</i> (tomografía por emisión de positrones).
<b>RCV</b>	Riesgo cardiovascular.
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear.
<b>RR</b>	Riesgo relativo
<b>SCA</b>	Síndrome Coronario Agudo.
<b>SCORE</b>	Systematic COronary Risk Estimation (evaluación sistemática del riesgo coronario).
<b>SIDA</b>	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.
<b>SPNS</b>	Plan Nacional sobre el Sida
<b>TAC</b>	Tomografía Axial Computarizada.
<b>TAD</b>	Tensión arterial diastólica
<b>TAR</b>	Tratamiento antirretroviral.
<b>TAS</b>	Tensión arterial sistólica
<b>TNF</b>	Factor de Necrosis Tumoral
<b>VHC</b>	Virus de la hepatitis C.
<b>VIH</b>	Virus de la inmunodeficiencia humana.

## Presentación

La presente Tesis Doctoral se ha realizado conforme a las directrices de la normativa aprobada por el Real Decreto 99/2011 de la Universidad Miguel Hernández (UMH) bajo la modalidad de Tesis Doctoral por compendio de publicaciones, para optar a la mención de Doctor por la UMH a través del programa de Doctorado de Salud Pública, Ciencias Médicas y Quirúrgicas.

La investigación realizada ha dado como resultado la publicación de un artículo científico en una revista de habla inglesa de difusión internacional. Esta revista está indexada en el *Journal Citation Reports* (JCR) e incluida en el primer cuartil de su categoría (año 2017); cumpliendo así con los criterios establecidos por la Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación (ANECA).

### PUBLICACIÓN:

- Título: Subclinical atherosclerosis in low Framingham risk HIV patients.
- Autores: León R, Reus S, López N, Portilla I, Sánchez-Payá J, Giner L, Boix V, Merino E, Torrús D, Moreno-Pérez Ó, Portilla J.
- Revista: Eur J Clin Invest. 2017 Aug;47(8):591-599. doi: 10.1111/eci.12780. PMID: 28664622.
- JRC 2017: Factor de impacto: 3,086. Posición 32 de 154 (79,7% - Q1) en la categoría "Medicine, General & Internal" y posición 57 de 133 (57,5% - Q2) en la categoría "Medicine, Research & Experimental" (SCIE).



# Índice

<b>Resumen</b> .....	12
<b>Abstract</b> .....	14
<b>I. Introducción</b> .....	16
1. Epidemiología de la infección por el VIH .....	17
1.1 Datos epidemiológicos y mecanismo de transmisión .....	17
1.2 Terapia antirretroviral y su efecto sobre la epidemiología del VIH .....	20
2. Riesgo cardiovascular en los pacientes con infección por VIH .....	22
2.1 Incidencia en comparación con poblaciones no infectadas .....	22
2.2 Factores de riesgo cardiovascular tradicionales e infección por VIH .....	22
2.3 Tratamiento antirretroviral y riesgo cardiovascular .....	24
2.4 Inflamación y función endotelial .....	25
2.5 Otros factores asociados con la aterosclerosis en pacientes con infección por VIH .....	29
3. Arteriosclerosis carotídea subclínica .....	38
3.1 Ecografía carotídea: grosor de íntima-media, presencia de placas .....	38
3.2 Significado clínico de la arteriosclerosis carotídea subclínica .....	40
3.3 Arteriosclerosis subclínica en pacientes con infección por VIH .....	44
<b>II. Justificación</b> .....	46
<b>III. Hipótesis y objetivos</b> .....	51
1. Hipótesis .....	52
2. Objetivos .....	53
<b>IV. Pacientes y métodos</b> .....	54
1. Diseño y lugar de estudio .....	55
1.1 Diseño .....	55
1.2 Lugar de estudio .....	55
2. Sujetos del estudio .....	55
2.1 Criterios de inclusión .....	55
2.2 Criterios de exclusión .....	55
2.3 Tamaño muestral .....	56
2.4 Forma de selección .....	56
3. Variables a estudio .....	56
3.1 Variables identificadoras .....	56
3.2 Variables resultado .....	56
3.3 Variables explicativas .....	57
4. Recogida de los datos .....	58

4.1 Descripción de la metodología del estudio ecográfico carotídeo.....	58
4.2 Descripción de la metodología del estudio de DNA bacteriano .....	59
4.3 Descripción de la metodología para la cuantificación de los niveles de citocinas (sCD14, TNF-alfa, IL-6) y carga viral de VIH en sangre .....	59
5. Análisis de datos .....	60
<b>V. Resultados</b> .....	62
1. Estudio descriptivo de la población estudiada .....	63
1.1 Variables sociodemográficas .....	63
1.2 Variables relacionadas con la infección por VIH y el TAR .....	65
1.3 Variables de exploración física.....	67
1.4 Variables de comorbilidades asociadas .....	68
1.5 Variables de traslocación bacteriana y de inflamación.....	71
1.6 Variables de resultado (GIMC y presencia de placa carotídea) .....	72
2. Análisis de la presencia de placa carotídea en la población a estudio.....	73
2.1 Relación entre el GIMC y la presencia de placa carotídea .....	73
2.2 Variables sociodemográficas y presencia de placa carotídea.....	73
2.3 Variables de factores de riesgo cardiovascular y la presencia de placa carotídea.....	74
2.4 Variables asociadas con la infección VIH y la presencia de placa carotídea ...	76
2.5 Variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y la presencia de placa carotídea .....	77
2.6 Magnitud de la asociación de los factores de riesgo de aterosclerosis subclínica. Análisis multivariante.....	79
3. Análisis del grosor de íntima media carotídea en la población a estudio.....	83
3.1 Variables sociodemográficas y GIMC.....	83
3.2 Variables de factores de riesgo cardiovascular y GIMC.....	84
3.3 Variables asociadas con la infección VIH y GIMC.....	86
3.4 Variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y GIMC..	88
3.5 Magnitud de la asociación de los factores de riesgo y el GIMC. Análisis multivariante .....	89
3.6 Reproducibilidad interobservador de GIMC.....	90
4. Factores asociados con los niveles de DNAr e IL-6 .....	91
<b>VI. Discusión</b> .....	95
<b>VII. Conclusiones</b> .....	109
<b>VIII. Índice de tablas y figuras</b> .....	111
1. Índice de tablas.....	112

2. Índice de figuras .....	112
<b>IX. Bibliografía</b> .....	116
<b>X. Anexos</b> .....	147
1. Artículos publicados .....	148



## Resumen

**Introducción:** La patogenia de la aterosclerosis es compleja y las diferencias entre los pacientes infectados por el VIH y la población en general no se explican completamente por una mayor prevalencia de FRCV, como la hipertensión arterial, la diabetes, el tabaquismo y la dislipemia. La aterosclerosis se comporta como una enfermedad inflamatoria crónica, y hay datos sólidos que apoyan una correlación entre la inflamación y el desarrollo de eventos vasculares. El papel de la inflamación puede ser incluso más importante en los pacientes con VIH, ya que muchos de los marcadores inflamatorios, como la IL-6, son más altos en la infección por el VIH y no se normalizan con el TAR. El origen de este estado inflamatorio es probablemente multifactorial, pero la traslocación bacteriana podría ser el principal mecanismo patogénico. Los pacientes infectados por el VIH bien controlados sin FRCV parecen tener un mayor riesgo de episodios cardiovasculares. Se ha planteado la hipótesis de que la inflamación podría ser el principal mecanismo patogénico de la aterosclerosis en estos pacientes. Para aclarar esa pregunta, hemos estudiado un grupo de pacientes con VIH con muy bajo riesgo cardiovascular, medido con la escala de Framingham, para determinar la prevalencia de aterosclerosis carotídea subclínica y su relación con marcadores inflamatorios y de traslocación bacteriana.

**Materiales y métodos:** Estudio de casos y controles. Sujetos: pacientes infectados por VIH mayores de 35 años que reciben TAR, con carga viral <50 copias/ml y puntuación de riesgo de Framingham <10%. Criterios de exclusión: enfermedades inflamatorias; dislipemia que requiera estatinas; fumar > 5 cigarrillos/día; diabetes; hipertensión; enfermedades vasculares. Variable de resultado: aterosclerosis subclínica determinada por ecografía: GIMC mayor de 0,8 mm o presencia de placa carotídea. Variables explicativas principales: DNA bacteriano ribosómico (DNAr), sCD14, IL-6 y TNF- alfa. Análisis de los datos: La población se analizó de acuerdo con la presencia de aterosclerosis carotídea. Para cuantificar la asociación entre las variables explicativas y la presencia de placa carotídea, las variables cuantitativas se transformaron en variables dicotómicas (utilizando los puntos de cortes con mejor discriminación en cada caso); se utilizó la prueba de Chi cuadrado y se calculó la OR con su IC del 95%; se realizó un análisis de regresión logística multivariante para identificar los factores asociados independientemente con la presencia de placa carotídea. Para estudiar la asociación entre las variables cualitativas y el GIMC, se utilizó la prueba T de Student o la prueba U de Mann – Whitney; en el caso de las variables cuantitativas, se usó la prueba de Pearson o la de Spearman según correspondiera; se realizó un análisis de regresión lineal para identificar los factores asociados de forma independiente con el GIMC.

**Resultados:** Se incluyeron 84 pacientes, 75% varones, edad media 45 años y células CD4 + media 657 mm<sup>3</sup>. La mediana de la puntuación de riesgo de Framingham fue del 1% a los 10 años (percentil 25-75: 0,5-4%). Dieciocho pacientes (21%) tenían aterosclerosis subclínica.

Factores asociados con la presencia de placa carotídea: Las variables que se asociaron significativamente, en el análisis univariante, fueron la edad, el índice cintura - cadera, tiempo desde el diagnóstico de VIH, presencia de DNAr y niveles de IL-6. El primer modelo de análisis multivariante incluyó edad, sexo, FRCV y variables con  $p < 0,20$  en el análisis univariante, mostró que solo la edad se asoció significativamente con la presencia de placa carotídea (OR= 5,2 para la edad > 44 años,  $p = 0,03$ ). En el segundo modelo, que incluye biomarcadores, solo la edad y los niveles de IL-6 permanecieron significativamente asociados con la presencia de placa carotídea. La OR para la edad > 44 años e IL-6 > 6,6 pg/mL fueron 7 (IC 95% 13 - 40,  $p=0,02$ ) y 9 (IC 95% 1 - 85,  $p=0,04$ ), respectivamente. En el tercer modelo multivariante que incluye la puntuación de riesgo de Framingham, el índice cintura - cadera ( $p=0,03$ ), el tiempo desde el diagnóstico del VIH ( $P=0,03$ ) y los niveles de IL-6 ( $p=0,05$ ), permanecieron significativamente asociados con la presencia de placa carotídea.

Factores asociados con el GIMC: Las variables que se asociaron significativamente con un mayor GIMC en el análisis univariante fueron una mayor edad ( $p=0,01$ ), la tensión arterial ( $p=0,05$ ) y el tiempo desde el diagnóstico de VIH ( $p=0,04$ ). Los marcadores inflamatorios y de TB no se asociaron con GIMC. El análisis multivariante que incluyó edad, sexo, FRCV y variables significativas en el análisis univariante, mostró que sólo la edad permaneció significativamente asociada con el GIMC (OR 7, IC 95% 1 – 40,  $p=0,02$ ).

**Conclusiones:** Los dos principales factores de riesgo que se asocian con la presencia de aterosclerosis subclínica son la edad y la inflamación representada por el biomarcador IL-6. La inflamación está intensamente asociada con la aterosclerosis subclínica en ausencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos. La prevalencia de traslocación bacteriana definida como detección de DNA bacteriano (DNAr) positivo fue de 41%. Los pacientes con aterosclerosis subclínica presentan de forma significativa mayor proporción de traslocación bacteriana determinada mediante DNA bacteriano; sin embargo, esta asociación desapareció en el análisis multivariante. El 21% de los pacientes con infección por VIH en tratamiento antirretroviral, que se encuentran con buen control virológico y que poseen un riesgo cardiovascular bajo determinado por puntuación en la escala de Framingham, tienen aterosclerosis carotídea subclínica.

## Abstract

**Background:** Pathogenesis of atherosclerosis is complex and differences between HIV-infected patients and general population are not completely explained by a higher prevalence of traditional cardiovascular risk factors (CVRF) such as hypertension, diabetes mellitus, smoking and dyslipidemia. Atherosclerosis behaves as a chronic inflammatory disease and there are strong data supporting a relationship between inflammation and development of cardiovascular events. The role of inflammation can be even more important in HIV-patients, as many inflammatory markers, such as interleucine-6 (IL6), are higher in HIV infection, and do not normalize with ART. The origin of this inflammatory state is probably multifactorial, but microbial translocation (MT) could be the main pathogenic mechanism. Well-controlled HIV-infected patients without CVRF seem to have an increased risk of cardiovascular events. It has been hypothesized that inflammation could be the main pathogenic mechanism of atherosclerosis in these patients. In order to clarify that question, we have studied a group of HIV patients with very low cardiovascular risk, measured with the Framingham score, to determine the subclinical carotid atherosclerosis prevalence and its relationship with inflammatory and MT markers.

**Materials and methods:** Case-control study. Subjects: HIV infected patients aged >35 years receiving antiretroviral treatment with viral load <50 copies/mL and Framingham risk score <10%. Exclusion criteria: inflammatory diseases; dyslipidemia requiring statins; smoking >5 cigarettes/day; diabetes; hypertension; vascular diseases. Main outcome: subclinical atherosclerosis determined by ultrasonography: common carotid intima-media thickness greater than 0.8mm or carotid plaque presence. Main explanatory variables: ribosomal bacterial DNA (rDNA), sCD14, interleucine 6 (IL6) and TNF- $\alpha$ . Data Analysis: The population was analyzed in accordance with the presence of carotid atherosclerosis. To quantify the association between explanatory variables and carotid plaque presence, quantitative variables were turned on dichotomic variables using the cutoffs that best discriminate between groups; chi-squared Test was used and the odds ratio (OR) with its 95% confidence interval (CI95%) was calculated; multivariate, unconditional logistic regression analysis was performed to identify factors independently associated with subclinical atherosclerosis. To study the association between the qualitative variables and CIMT, the Student t-test or Mann-Whitney U-test were used; to study correlations between quantitative variables and CIMT, the Pearson and Spearman tests were used as appropriate; linear regression analysis was used to identify factors independently associated with CIMT

**Results:** Eighty four patients were included, 75% male, mean age 45 years and mean CD4+ cells 657mm<sup>3</sup>. Median Framingham risk score was 1% at 10 years (percentile 25-75: 0.5-4%). Eighteen patients (21%) had subclinical atherosclerosis. Factors Associated with carotid plaque presence: The variables that were significantly in univariate analysis included older age, waist-hip ratio, time from HIV diagnosis, rDNA and IL6 levels. The first model of multivariate analysis including age, sex, CVRF and variables with p<0.20 in univariate analyses showed that only age was significantly associated with carotid plaque presence (OR 5.2 for age >44 years, p 0.03). In the second model, that includes biomarkers, only age and IL6 levels remained significantly associated with carotid plaque presence, and odds ratios for age >44 years and IL6 >6.6 pg/mL were 7 (IC95% 1.3-40, p 0.02) and 9 (IC95% 1-85, p 0.04) respectively. In the third multivariate model including Framingham risk score, waist-hip ratio (p 0.03), time from HIV diagnosis (p 0.03) and IL6 (p 0.05) levels remained significantly associated with carotid plaque presence. Factors Associated with CIMT: Variables that were significantly associated with higher CIMT in univariate analysis were older age (p 0.01), blood pressure (p 0.05) and time from HIV diagnosis (p 0.04). MT and inflammatory markers were not associated with CIMT. Multivariate analysis including age, sex, CVRF and significant variables in the univariate analysis showed that only age remained significantly associated with CIMT (p 0.02).

**Conclusions:** The two main risk factors associated with the presence of subclinical atherosclerosis are age and inflammation represented by the biomarker IL-6. Inflammation is strongly associated with subclinical atherosclerosis in the absence of classic cardiovascular risk factors. The prevalence of bacterial translocation defined as detection of positive bacterial DNA (rDNA) was 41%. Patients with subclinical atherosclerosis have a significantly higher proportion of bacterial translocation determined by bacterial rDNA; however, this association disappeared in multivariate analysis. 21% of HIV-infected patients on antiretroviral therapy, who are in good virological control and have a low cardiovascular risk determined by a Framingham scale score, have subclinical carotid atherosclerosis.



# Introducción



## **1. Epidemiología de la infección por el VIH**

### **1.1 Datos epidemiológicos y mecanismo de transmisión**

Se puede afirmar, que en la actualidad la epidemia del VIH es muy diferente de la que se describió por primera vez en 1981. La epidemia se ha extendido a todos los países y a casi todas las poblaciones del mundo. En países con recursos limitados, especialmente en África subsahariana y el sudeste asiático, la propagación de la enfermedad es particularmente alarmante, pero continúa amenazando a otras poblaciones en Europa del Este, América Latina y el Caribe (1-3).

A finales de 2016, algunas de las estadísticas mundiales notificadas sobre el VIH eran las siguientes (4-5):

- 36,7 millones de adultos y niños infectados.
- 1,8 millones de personas se infectaron por primera vez ese año.
- 1 millón de personas murieron de SIDA en ese año.

En algunos países, la prevalencia de la infección por VIH parece haberse estabilizado o en algunos casos ha aumentado, lo que puede deberse a la introducción de tratamiento antirretroviral, el cual ha permitido aumentar la tasa de supervivencia de las personas infectadas. A su vez, la incidencia de nuevas infecciones por el VIH en 2016 fue de 3,4 millones, lo que representa una reducción del 47% en relación a la tasa de 2001.

Los países de África subsahariana y el Caribe tienen la mayor prevalencia del VIH en adultos a nivel mundial. En 2016, las tasas de infección por el VIH en adultos oscilaron entre <0,1% en Oriente Medio y África del Norte y 7% en África subsahariana, llegando a superar el 25% en ciertos países subsaharianos, como Botswana, Lesotho y Swazilandia. (4-5)

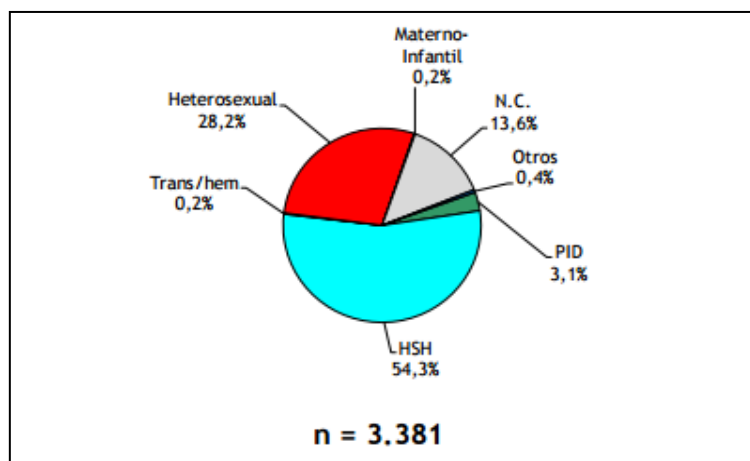
La infección por el VIH no es un problema que afecta exclusivamente a los adultos. Se estima que 1,8 millones de niños en todo el mundo están infectados por el VIH (4). En 2016, de 150.000 bebés y niños infectados por el VIH, el 70% nacieron en África subsahariana, el 25% en el sudeste asiático y el resto en América Latina y el Caribe (5-6). También, se estima que 25 millones de niños quedan huérfanos debido a la muerte prematura de sus padres a causa del SIDA, lo que conlleva una enorme responsabilidad social para la comunidad. A medida que la epidemia en el sudeste asiático y Europa del Este se intensifica, estas cifras solo pueden aumentar a menos que se tomen campañas preventivas más activas y planes de intervención para reducir la velocidad de la epidemia. A nivel mundial, la infección por el VIH se ha convertido en una de las diez principales causas de muerte en la década de 2010,

principalmente debido a la mortalidad relacionada con el VIH en el África subsahariana, donde fue la principal causa de muerte (7).

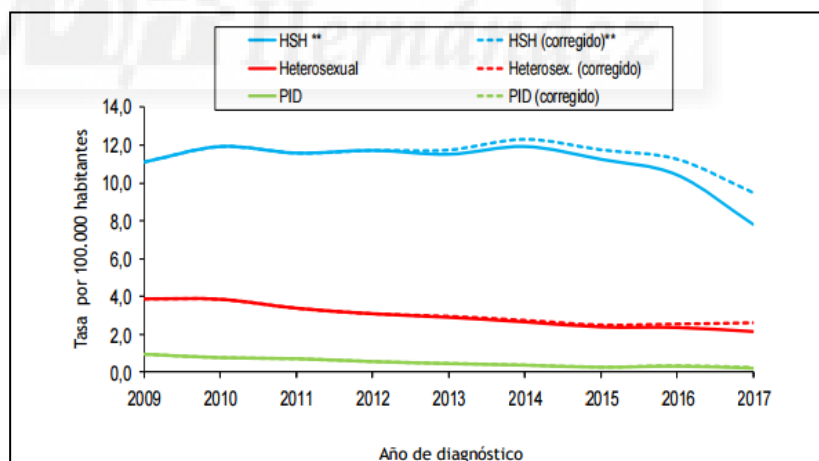
Según la Organización Mundial de la Salud, a finales de 2016, 2,1 millones de personas en Europa estaban infectadas por el VIH. La tasa de prevalencia promedio en Europa de la infección por el VIH es del 0,9%, pero esta tasa está aumentando en muchos países de Europa del Este. Se estima que hubo 190.000 nuevos casos de VIH en 2016, lo que representa un aumento del 60% desde 2010. La epidemia del VIH a nivel europeo, está dominada por dos países, Rusia y Ucrania. Entre 2010 y 2016, el número de nuevos casos de VIH en Rusia aumentó en un 108%. En Europa del Este y Asia Central, solo alrededor del 21% de las personas infectadas por el VIH recibieron tratamiento, y 47.000 de ellas murieron de enfermedades relacionadas con el SIDA en 2015, un aumento del 22% desde 2010 (8).

El modo principal de transmisión de nuevos diagnósticos de la infección por VIH, varía de una región a otra. En Europa occidental y central, la transmisión sexual entre HSH es el mecanismo más común, seguida de la transmisión heterosexual. Por el contrario, en Europa del Este, el contacto heterosexual representa la mayoría de los nuevos diagnósticos, seguidos de los relacionados con el uso de drogas por vía parenteral (8).

En España, la tasa global de nuevos diagnósticos de VIH es similar a la de otros países de Europa occidental. Sin embargo, a pesar de las mejoras en las últimas décadas, todavía mantiene una tasa superior a la media de los países de la Unión Europea y de Europa Occidental. La infección por VIH en España se transmite principalmente a través del sexo, siendo mayoritaria la transmisión entre hombres que tienen sexo con hombres (figura 1). El diagnóstico tardío (presencia de una cifra de linfocitos CD4 inferior a 350 células/ $\mu$ l en la primera determinación posterior al diagnóstico de la infección por VIH) es elevado, aunque ha disminuido ligeramente de forma global. Según el mecanismo de transmisión, la tasa de nuevos diagnósticos de VIH durante el período 2009-2017, tiene una tendencia ligeramente descendente, que varía según el modo de transmisión; a partir del año 2015, la tasa de nuevos diagnósticos en los HSH españoles desciende, mientras que entre los nacidos en otros países se mantiene estable. (9) (figura 2).



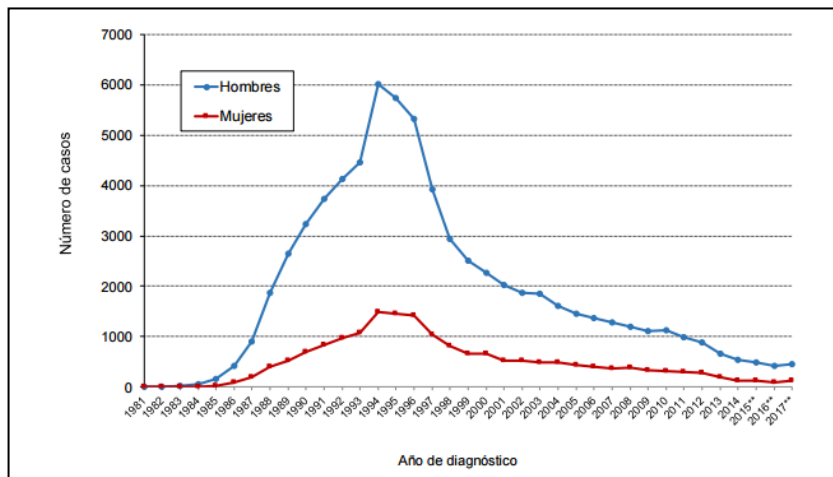
**Figura 1: Distribución por modo de transmisión de los nuevos diagnósticos de VIH (España, 2017).** PID: Personas que se inyectan drogas; HSH: Hombres que tienen relaciones sexuales con hombres; N.C.: No consta información Fuente: Área de Vigilancia de VIH y Comportamientos de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH y sida en España 2017: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - D.G. de Salud Pública, Calidad e Innovación / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. Madrid; Nov 2018.



**Figura 2: Tasas de nuevos diagnósticos de VIH anuales según modo de transmisión (España, 2009-2017).** \*\*Tasa por 100.000 hombres. Fuente: Área de Vigilancia de VIH y Comportamientos de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH y sida en España 2017: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - D.G. de Salud Pública, Calidad e Innovación / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. Madrid; Nov 2018.

En cuanto a los nuevos casos de SIDA en España, la información facilitada por el Registro Nacional muestra que la incidencia del SIDA continúa su tendencia descendente. Sin embargo, esta tendencia a la baja se ha ralentizado en los últimos años (9) (figura 3).

**Figura 3: Casos de sida en España por sexo, 1981-2017.** \*\* Estimaciones corregidas por retraso que



pueden sufrir modificaciones conforme se complete la notificación. Fuente: Área de Vigilancia de VIH y Comportamientos de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH y sida en España 2017: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - D.G. de Salud Pública, Calidad e Innovación / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. Madrid; Nov 2018.

## 1.2 Terapia antirretroviral y su efecto sobre la epidemiología del VIH

La introducción de la terapia antirretroviral ha tenido un impacto importante en la epidemiología de la infección por el VIH. En general, la prevalencia de la infección ha aumentado, lo que se encuentra en relación a la mayor tasa de supervivencia de las personas que reciben tratamiento, mientras que la incidencia ha disminuido, lo que se puede atribuir a la reducción de la transmisión causada por un tratamiento más generalizado (10).

Entre las personas infectadas por el VIH, la terapia antirretroviral puede reducir la mortalidad y las complicaciones graves relacionadas y no relacionadas con el SIDA. La esperanza de vida de los pacientes que reciben TAR sin otras comorbilidades importantes, puede llegar a ser similar a la de la población general (10,11).

Para los pacientes con VIH, el TAR eficaz da como resultado la supresión sostenida del ARN del VIH. Esto conduce a un aumento de la inmunidad celular (como el recuento de CD4) y la consiguiente reducción de la morbilidad y la mortalidad relacionada con el SIDA. La inhibición del ARN del VIH también puede conducir a una reducción de la activación inmune

del VIH (como las citocinas proinflamatorias, la inflamación crónica y la activación de las células T) (12).

Existe suficiente evidencia de que el inicio de la terapia antirretroviral en pacientes con un recuento de linfocitos T CD4 de  $\leq 350$  células /  $\mu\text{l}$  puede reducir significativamente el riesgo de morbilidad y mortalidad relacionadas con el SIDA (13-25).

En pacientes con SIDA (es decir, un recuento de CD4  $<200$  células / microlitro y / o antecedentes de una enfermedad definitiva de SIDA), los ensayos clínicos muestran claramente que la terapia antirretroviral puede mejorar la supervivencia y retardar la progresión de la enfermedad (17).

Para los pacientes con recuentos de CD4  $> 350$  células /  $\mu\text{l}$ , no está claro el beneficio en la mortalidad de iniciar la terapia antirretroviral. Sin embargo, comenzar el TAR en estos pacientes puede reducir las complicaciones graves relacionadas y no relacionadas con el SIDA. La mejor evidencia para iniciar el TAR en pacientes con un recuento de CD4  $> 350$  células /  $\mu\text{l}$  proviene de los ensayos START y TEMPRANO (26,27).

El ensayo START (*Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment*) evaluó el TAR precoz versus diferido en 4685 hombres y mujeres sin tratamiento previo que provenían de países de ingresos bajos, moderados y altos y tenían recuentos de CD4  $> 500$  células/microl. Los individuos fueron asignados al azar para el inicio precoz del TAR (al ingresar al estudio) o el inicio tardío (cuando el recuento de CD4 alcanzó 350 células/microl). Después de aproximadamente tres años de seguimiento, un análisis intermedio encontró que el riesgo de un resultado combinado que incluía eventos relacionados con el SIDA, eventos graves no relacionados con el SIDA (p. Ej., Cáncer, enfermedades cardiovasculares, hepáticas y renales graves) o muerte, era significativamente reducido en las personas que recibieron tratamiento precoz en comparación con la terapia diferida (1,8% frente a 4,1%), lo que lleva a la suspensión anticipada del brazo de terapia diferida. En ambos grupos de estudio, la mayoría de los eventos ocurrieron cuando el recuento de CD4 fue  $> 500$  células / microl (94 de 138 eventos). En comparación con el grupo que se asignó a la terapia diferida (mediana del recuento de CD4 408 al inicio del TAR), el grupo que se asignó al TAR precoz (mediana del recuento de CD4 651 al inicio del TAR) tenía significativamente menos probabilidades de desarrollar SIDA grave (HR 0,28, IC del 95%: 0,15 a 0,50) o eventos no relacionados con el SIDA (HR 0,61, IC del 95%: 0,38 a 0,97) (26).

El ensayo TEMPRANO, que evaluó el inicio del TAR precoz versus diferido, incluyó a 849 personas con VIH de Costa de Marfil que tenían un recuento de CD4  $\geq 500$  células / microl

al ingresar al estudio. Se estableció un end point primario que incluía muerte por cualquier causa, enfermedad definitoria de SIDA, cáncer no definitorio de SIDA o enfermedad bacteriana invasiva no definitoria de SIDA. En ambos grupos, el recuento medio de CD4 al inicio fue > 500 células/ microL. Los individuos asignados a la terapia precoz tuvieron significativamente menos probabilidades de desarrollar un evento en comparación con aquellos que fueron asignados a la terapia diferida (HR 0,56, IC del 95%: 0,33 a 0,94) (27).

## **2. Riesgo cardiovascular**

En los países desarrollados, la morbilidad y la mortalidad de los eventos no relacionados con el SIDA, han superado la de los eventos relacionados con el SIDA, esto se debe al uso en la actualidad de un tratamiento más eficaz y generalizado de la infección por el VIH que ha permitido una disminución importante de la incidencia de enfermedades oportunistas (28-30). Las enfermedades cardiovasculares se han convertido en una importante causa de muerte en pacientes con VIH (31-34).

En pacientes infectados por el VIH, las enfermedades cardiovasculares tienen un origen multifactorial, llegando a estar relacionadas con factores de riesgo vasculares clásicos, inflamación y disfunción endotelial provocada por el propio VIH y cambios metabólicos secundarios a ciertos fármacos antirretrovirales (35).

### **2.1 Incidencia en comparación con poblaciones no infectadas**

Varios estudios han analizado grandes bases de datos y cohortes clínicas, comparando la incidencia de enfermedades vasculares en pacientes con y sin VIH. Aunque algunos de estos estudios están limitados por el pequeño número de eventos, el corto tiempo de seguimiento y la evaluación inadecuada de otros factores de riesgo cardiovasculares, han informado de manera consistente que la incidencia de eventos cardiovasculares en pacientes infectados por el VIH ha aumentado de 1,5 a 2 veces en comparación con la población control, resaltando una diferencia importante en el perfil de riesgo cardiovascular de ambos grupos (36-40).

### **2.2 Factores de riesgo vasculares clásicos**

Los factores de riesgo clásicos (edad, tabaquismo, dislipidemia, hipertensión y diabetes), en los pacientes con infección por VIH, son importantes predictores del riesgo de enfermedad cardiovascular (32). Estos factores son frecuentes en la población de pacientes infectados por el VIH.

## Hipertensión arterial

La hipertensión arterial es un factor de riesgo modificable que se puede utilizar como intervención terapéutica para reducir la morbilidad y mortalidad de las enfermedades cardiovasculares (41). Existe una relación continua y gradual entre la hipertensión arterial y la mortalidad total y cardiovascular demostrada tanto en población general como en los pacientes con infección por VIH. Más del 70% de los pacientes hipertensos padecen otros FRCV (42).

En el estudio realizado por Triant V. et al., reportaron una mayor prevalencia de hipertensión arterial en personas con infección por el VIH en comparación con la población general (21.2% vs 15.9%,  $p < 0,0001$ ) (43). En este mismo sentido en el estudio realizado por Guaraldi G. et al., objetivaron una mayor prevalencia de hipertensión arterial en pacientes con VIH específicamente en el grupo de edad mayor de 50 años, en comparación con los controles (44).

La HTA puede aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular entre un 30% y un 80%, independientemente de si está infectada por el VIH o no. La mayoría de las guías clínicas que abordan el tema de prevención, tratamiento y seguimiento de la HTA y del resto FRCV de pacientes infectados por el VIH siguen las mismas recomendaciones que la población general (45 - 47).

### **Tabaquismo:**

La tasa de tabaquismo de las personas con VIH es mucho más alta que la de la población general; se estima una prevalencia entre 35 y 72% de tabaquismo en los pacientes con infección por VIH (48-50). En el estudio realizado por Boccara et al, reportaron que en un grupo de pacientes con infección por VIH con edad media de 50 años, tanto el sexo masculino como el tabaquismo fueron los factores de riesgo cardiovasculares más prevalentes (51).

Al igual que la población general, el tabaquismo es considerado el factor de riesgo principal de enfermedad vascular en las personas infectadas por el VIH y aumenta la mortalidad en este grupo de pacientes (52-54). En el estudio D:A:D (*The Data Collection on Adverse events of Anti-HIV Drugs*), el hábito tabáquico resultó ser un factor de riesgo independiente asociado a infarto agudo de miocardio; este riesgo disminuía progresivamente en relación con los años tras la suspensión del tabaquismo, hasta llegar a casi la mitad tras tres años de seguimiento (55).

### **Dislipidemia:**

Tanto la infección por el VIH como el TAR se asocian a anomalías del perfil lipídico. Las anomalías del metabolismo de los lípidos se notificaron originalmente en pacientes con sida avanzado durante la era anterior a la introducción del TAR combinado (56). Los pacientes con VIH tienen niveles más bajos de colesterol HDL y colesterol LDL y, posteriormente, niveles más altos de triglicéridos en plasma antes de desarrollar el sida. El grado de viremia puede correlacionarse con la cantidad de trigliceridemia (57). En el estudio D:A:D, la prevalencia de dislipemia en el grupo de paciente con infección por VIH fue del 45,9% (58). En los datos reportados en la cohorte española CoRIS, se observa que la prevalencia de dislipemia sigue siendo elevada, con un 27% de colesterol total elevado, 36% con colesterol HDL bajo, y un 19% de hipertrigliceridemia (50).

No está claro por qué la infección por VIH provoca cambios en el perfil de lípidos. Uno de los mecanismos propuestos relaciona al VIH con la inhibición de la salida de colesterol de los macrófagos humanos. La acumulación de lípidos dentro de los macrófagos se produce a través de la alteración del VIH del flujo de salida de colesterol dependiente del transportador de unión a ATP A1 (59).

### **Resistencia a la insulina y diabetes mellitus:**

Las anomalías del metabolismo de la glucosa también son frecuentes en los individuos con infección por VIH. La exposición a agentes antirretrovirales más antiguos se asoció con resistencia a la insulina y una mayor incidencia de diabetes, pero en la actualidad también existe evidencia que indica que el origen de estas alteraciones puede tener también un componente asociado al propio VIH (60,61). En el estudio *Multicenter AIDS Cohort Study* (MACS), la tasa de incidencia de diabetes fue de 4,7 casos por 100 personas-año entre hombres con VIH que usaban TAR en comparación con 1,4 casos por 100 personas-año entre hombres sin VIH durante un período de seguimiento de cuatro años (60). En el estudio D:A:D la incidencia de diabetes mellitus fue de 5,72 por 1.000 personas-años (62). En la cohorte española CoRIS, la prevalencia de diabetes mellitus fue del 2,8% (50). Otros estudios no han demostrado sistemáticamente un mayor riesgo de diabetes mellitus con la infección por VIH tratada. Estos estudios han diferido en la definición de diabetes mellitus, los regímenes de TAR que se utilizan habitualmente, su capacidad para adaptarse a los factores de confusión y la prevalencia subyacente de la obesidad (63,64).

### **2.3 Tratamiento antirretroviral y riesgo cardiovascular**



La asociación entre el uso de tratamiento antirretroviral con mayor riesgo cardiovascular en pacientes con infección por VIH, ha quedado demostrado en múltiples estudios; siendo esta asociación, multifactorial (65-74).

El inicio del TAR se suele acompañar de un aumento de los lípidos a nivel plasmático, lo cual se asocia con el aumento de peso inicial que presentan estos pacientes tras iniciar el tratamiento. Luego, los cambios en el perfil lipídico, va a depender de varios factores que incluyen la combinación de TAR, la carga genética, el estilo de vida, entre otros (57, 75-77).

La introducción del uso de los TAR del grupo de los IP de primera generación, coincidió con los primeros casos de cardiopatía isquémica que se reportaron en pacientes con infección por VIH, sugiriendo cierta causalidad en algunos estudios. Los primeros IP que se usaron (ritonavir, indinavir o nelfinavir) producían importantes cambios metabólicos, además de alteraciones en la distribución de la grasa corporal, lo cual puede explicar esta relación inicial (77-81). Sin embargo, el atazanavir se diferencia de otros IP por poseer un mejor perfil lipídico, especialmente cuando no se potencia con ritonavir (82).

El uso de algunos TAR puede asociar otros efectos proaterogénicos. Algunos estudios han mostrado que los IP, pero también algunos ITIAN, se asocian a deterioro de la función endotelial, aumento estrés oxidativo y de la inflamación, induciendo precozmente la aparición de marcadores de senescencia en células endoteliales y mononucleares (69-72, 80-83).

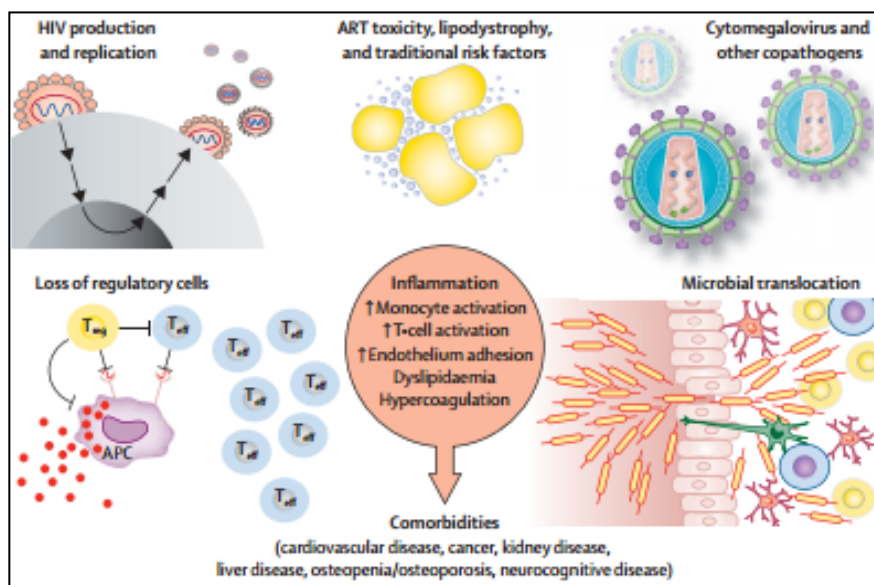
El estudio D:A:D, demostró un aumento de riesgo de IAM tras el inicio del TAR, llegando a alcanzar el 26% a los 6 años de seguimiento. Este aumento de riesgo generalmente se ha asociado a los efectos de los fármacos sobre el perfil metabólico.

Sin embargo, a pesar del aumento del riesgo cardiovascular asociado al TAR, el riesgo absoluto de complicaciones es bajo, lo cual sumado al alto riesgo de progresión de la infección en los pacientes sin TAR y la necesidad de su uso para mantener la supresión viral, permiten afirmar que los beneficios superan el riesgo vascular asociado. En diferentes estudios se ha demostrado que el TAR disminuye la inflamación y a su vez, la disfunción endotelial, lo cual se encuentra en probable relación con la supresión de la replicación viral (73, 84).

#### **2.4 Inflamación y función endotelial**

En las enfermedades y eventos cardiovasculares el desarrollo de aterosclerosis es un proceso complejo y multifactorial que incluye inflamación y alteraciones inmunológicas,

disfunción endotelial y rotura de placa, además de los factores de riesgo clásicos como hipertensión, tabaquismo, diabetes entre otros (85) (figura 4).



**Figura 4: Causas y consecuencias de la inflamación asociada al VIH.** Fuente: Deeks SG, Lewin SR, Havlir DV. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. Lancet. 2013 Nov 2;382(9903):1525-33.

## Inflamación

La inflamación representa uno de los mecanismos más importantes en el desarrollo de la aterosclerosis en los individuos con infección por VIH. El proceso de inflamación activa puede afectar a las células endoteliales y promueve un entorno protrombótico, lo que puede provocar aterosclerosis y ruptura de la placa. La infección por VIH está relacionada con una variedad de marcadores inflamatorios, incluida la proteína C reactiva y la IL-6 entre muchos otros (86).

La tomografía por emisión de positrones puede detectar la inflamación arterial mediante una mayor captación de un análogo de glucosa radiomarcado, fluorodesoxiglucosa, en los vasos sanguíneos. En un estudio realizado por Subramanian et al, con pacientes infectados por el VIH (edad media, 52 años) en tratamiento antirretroviral y sin enfermedad cardíaca conocida, se realizaron imágenes de PET y se compararon con los hallazgos en pacientes no infectados que se sometieron a imágenes de PET por otros motivos. La inflamación arterial en la aorta entre los pacientes infectados por el VIH fue mayor en comparación con los pacientes no infectados que tampoco tenían una enfermedad cardíaca conocida (se compararon por edad, sexo y puntuación de riesgo de Framingham), pero fue similar a la observada en pacientes no infectados del mismo sexo (edad media 69 años) con

enfermedad aterosclerótica conocida. Aunque la inflamación aórtica no se asoció con niveles de PCR y dímero D, sí se correlacionó con sCD163, un marcador soluble de monocitos y macrófagos que se ha asociado con aterosclerosis en poblaciones no infectadas (86).

La PCR es el más estudiado entre los muchos biomarcadores inflamatorios que pueden estar asociados con la aterosclerosis en la población general. El aumento de la PCR se asocia con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares, independientemente de los factores de riesgo tradicionales (86,87).

La infección por VIH se ha asociado con niveles elevados de PCR en comparación con los controles no infectados (87). En un estudio realizado por Tien et al, en el que incluyeron a 922 pacientes infectados por el VIH, seguidos durante cinco años, la PCR elevada se asoció de forma independiente con un aumento de la mortalidad global (88). En cuanto a la incidencia específica de enfermedad cardiovascular, en un estudio realizado por Triant et al, que incluyó a 487 pacientes infectados por el VIH y 69.870 no infectados, se evaluó la asociación entre los niveles de PCR y el riesgo de IAM en pacientes con VIH. La PCR alta se encontró con mayor frecuencia entre los pacientes infectados por el VIH (59 vs 39 por ciento,  $p < 0,0001$ ). El riesgo de IAM se multiplicó por 4,11 entre los sujetos con infección por el VIH comparado con aquellos sin ningún factor de riesgo cardiovascular (89).

El efecto del TAR sobre la PCR no está claro, existiendo en la actualidad resultados contradictorios entre diferentes estudios, algunos han mostrado un aumento (90), mientras que otros una disminución (91). En el estudio realizado por Bastard et al, en pacientes que habían recibido TAR a largo plazo, concluyen que probablemente los cambios observados en los biomarcadores de inflamación, estén más relacionados con factores personales de los individuos como el tabaquismo y la obesidad, que con el TAR (92).

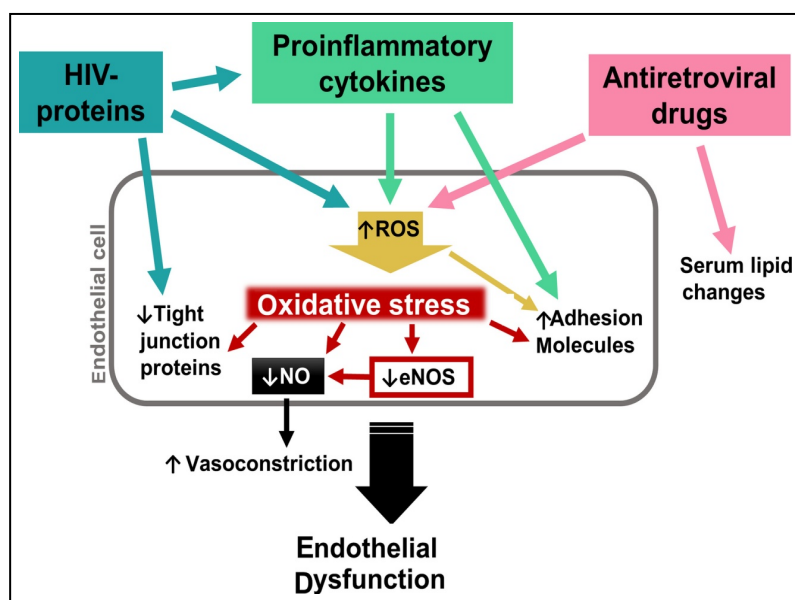
En la población general, se cree que el aumento de los niveles de la citoquina proinflamatoria IL-6 tiene un efecto causal directo sobre el desarrollo de la enfermedad coronaria lo cual también se ha observado en pacientes con infección por VIH, especialmente en aquellos con enfermedad más avanzada. En un análisis post hoc de participantes en el ensayo SMART, que evaluó la continuación del TAR versus la interrupción del tratamiento según el recuento de células CD4, los niveles elevados del biomarcador IL-6 se asociaron con una mayor viremia del VIH, eventos cardiovasculares y mortalidad por todas las causas (93,94). Un estudio posterior realizado por Baker et al, en pacientes con infección por VIH sin enfermedad cardiovascular conocida y sin recibir TAR en el último año, sugirió que las elevaciones de IL-6 observadas se asocian con una

disfunción endotelial reflejada por los cambios en la elasticidad de las arterias pequeñas y las moléculas de adhesión endotelial (95). Finalmente, en un análisis post hoc de muestras de dos ensayos de VIH (SMART y SPRIT), con una muestra de 4304 sujetos, encontraron que la IL-6 fue un mejor predictor de eventos cardiovasculares en comparación con el dímero D y la PCR (96).

### **Disfunción endotelial**

La disfunción endotelial, definida como la pérdida de la relajación vascular dependiente del endotelio en respuesta a estímulos vasodilatadores, representa un proceso fisiopatológico precoz en la aterogénesis de las enfermedades cardiovasculares. Probablemente representa el vínculo más razonable entre la infección, la inflamación y la arteriosclerosis (97).

La disfunción endotelial es un indicador predictivo de enfermedad cardiovascular relacionado con diabetes, hipertensión, dislipemia, hipogonadismo, tabaquismo y otras enfermedades metabólicas (98). El endotelio vascular de un individuo infectado por el VIH, está constantemente expuesto a una variedad de estímulos, asociados al propio virus y al TAR, que producirán una disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico, lo que lleva al endotelio vascular a un estado disfuncional (97) (figura 6). Uno de los mecanismos propuestos, plantea que el VIH podría ingresar en el endotelio por medio de receptores CD4+ o a través de receptores galactosilceramida en aquellas células CD4 negativas. Otras teorías que se han propuesto incluyen la activación de las células endoteliales como consecuencia de la secreción de citocinas proinflamatorias lo que provoca un aumento en la expresión de la molécula de adhesión con la consiguiente adherencia de los monocitos y aumento de la permeabilidad vascular (97, 99). El daño endotelial está relacionado con la gravedad y la progresión de la infección por VIH (100).



**Figura 5: Resumen esquemático de los efectos del VIH y el TAR sobre las células endoteliales vasculares.** Fuente: Marincowitz C, Genis A, Goswami N, De Boever P, Nawrot TS, Strijdom H. Vascular endothelial dysfunction in the wake of HIV and ART. FEBS J. 2019 Apr;286(7):1256-1270.

Los pacientes infectados por el VIH sin tratamiento antirretroviral presentan marcadores de disfunción endotelial plasmática elevados en el momento del diagnóstico, disminuyen cuando se inicia el TAR y aumenta cuando se interrumpe el TAR (101,102). Otros estudios han demostrado que el TAR promueve un efecto de estimulación endotelial. En un estudio realizado por Baker et, en pacientes con infección por el VIH que no habían recibido tratamiento previo o que no habían utilizado el TAR durante al menos 6 meses, encontraron que el TAR se asoció a una reducción de los niveles de dimetilarginina asimétrica (ADMA), un marcador novedoso de disfunción endotelial (97,98,103).

## 2.5 Otros factores asociados con la aterosclerosis en pacientes con infección por VIH

### Coinfección viral:

La inflamación crónica que se produce de forma secundaria a la presencia de otros agentes virales como el citomegalovirus y el virus de la hepatitis C entre otros, también se han asociado al desarrollo de aterosclerosis y de las enfermedades cardiovasculares en pacientes con infección por el VIH (104).

A pesar de que la infección por VIH se considera un factor de riesgo independiente de aterosclerosis, incluso en pacientes con TAR, la coinfección por CMV podría contribuir a

acelerar las complicaciones cardiovasculares que se observa en estos pacientes (104). En un estudio realizado por Hsue et al, demostraron que el aumento de la respuesta de las células T CD4 y CD8 secundaria a la coinfección por CMV, se asoció de manera independiente con un aumento del GIMC en pacientes con VIH (105). Parrinello et al, también observaron que los niveles más altos de anticuerpos IgG para CMV están asociados con aterosclerosis subclínica carotídea en mujeres con VIH (106). Además, en los receptores de trasplantes de órganos sólidos, el tratamiento profiláctico para prevenir la reactivación del CMV reduce el riesgo de aterosclerosis, lo que sugiere un importante campo de acción preventivo en este grupo de pacientes (107)

Entre los pacientes infectados por el VIH, otros virus asociados con el desarrollo de enfermedad cardiovascular subclínica incluyen el virus del herpes simple tipo 1 y 2 y el virus herpes humano tipo 8 (108). También se ha descrito que la coinfección por el virus de la hepatitis C se asocia con disfunción endotelial (109) y modula los factores de riesgo conocidos de enfermedad cardiovascular en pacientes infectados por el VIH, pero no está claro si el VHC aumenta el riesgo de infarto de miocardio (110-111).

#### **Vitamina D:**

La deficiencia de vitamina D, definida como niveles séricos de 25-hidroxivitamina D [25 (OH) D] <75 nmol/l, se asocia con un mayor riesgo de enfermedad vascular en la población general. En los sujetos con VIH se ha relacionado con marcadores indirectos de enfermedad cardiovascular aterosclerótica subclínica, incluido el GIMC. Uno de los primeros estudios que reportó esta asociación fue el realizado por Choi et al, con una muestra de 139 pacientes con infección por VIH y edad media de 45 años, encontraron una relación significativa entre niveles bajos de vitamina D con un mayor GIMC, relación que se mantuvo después de realizar ajuste tomando en cuenta tanto los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales como los relacionados al VIH (112-115).

El efecto de la vitamina D sobre la función vascular podría estar mediado por la inflamación, debida a que se ha demostrado en estos pacientes un aumento de la expresión endotelial del factor nuclear- $\kappa$ B, concentraciones más altas de IL-6, TNF, molécula de adhesión de células vasculares y molécula de adhesión intercelular (115).

Sin embargo, no está claro si suplementar la vitamina D puede mejorar el pronóstico de la enfermedad cardiovascular. Los estudios que evalúan los efectos de la suplementación con

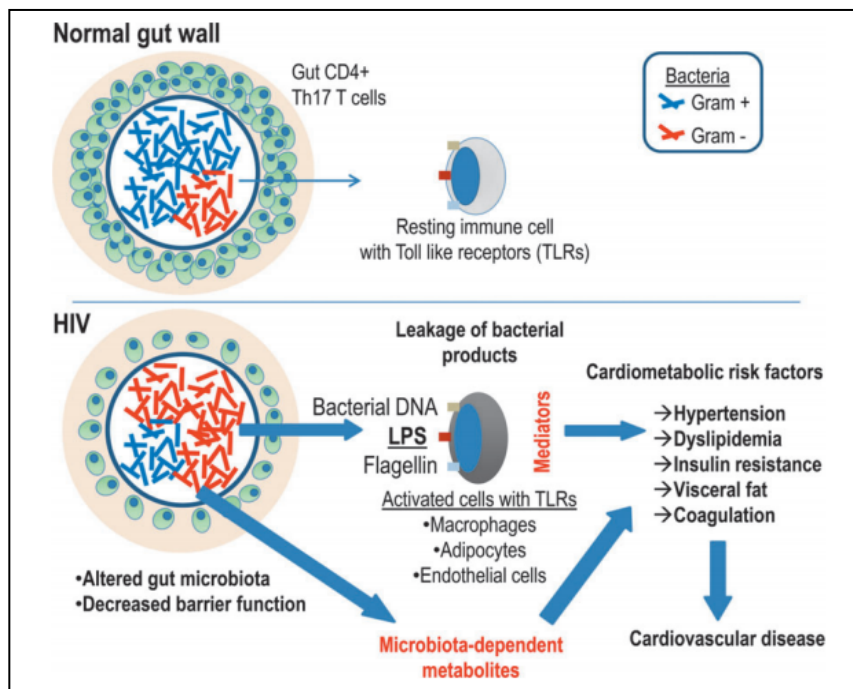
vitamina D sobre las medidas indirectas de la aterosclerosis (p. Ej., Dilatación mediada por el flujo sanguíneo de la arteria braquial y GIM carotídeo) tienen resultados contradictorios (116,117). En un ensayo clínico realizado por Longenecker et al, en el que incluyeron 45 adultos infectados por el VIH en TAR con supresión viral que tenían niveles de vitamina D <20 ng / ml, no hubo cambios significativos en la dilatación de la arteria braquial mediada por flujo a las 12 semanas de seguimiento en los grupos del estudio (30 individuos incluidos en el brazo de suplementación diaria con 4000 unidades internacionales de colecalciferol y 15 pacientes asignados a placebo); la mayoría de los participantes no alcanzaron concentraciones séricas suficientes de 25(OH)D, lo que sugiere que estos pacientes podrían ser resistentes a la dosis diaria máxima de suplementos de vitamina D oral recomendada en las guías de práctica clínica (116).

### **Traslocación bacteriana**

La traslocación bacteriana, consiste en el paso de productos microbianos desde la luz intestinal a los ganglios linfáticos y al torrente sanguíneo debido a la disfunción del tejido linfoide de la mucosa intestinal. Este es uno de los mecanismos que se relaciona con el desarrollo de inflamación persistente en la población con infección por VIH y a su vez, con el mayor riesgo de eventos cardiovasculares que presenta esta población (118).

El evento central de la fisiopatología del VIH es la destrucción de los linfocitos Th17 en el tejido linfoide asociado a la mucosa en las primeras etapas de la infección, lo que representa aproximadamente el 90% de la reserva total de linfocitos. Acompañando al daño a MALT, ocurre la apoptosis de las células epiteliales y la pérdida de la integridad de la mucosa, lo que lleva a una traslocación bacteriana anormal, que se cree que es la causa de la activación inmune sistémica observada en sujetos infectados por VIH. Por otro lado, se ha observado que los cambios en la composición de la microbiota intestinal relacionados a la infección por VIH se asocian con la pérdida de MALT, que a su vez, puede ser una de las principales causas de la inflamación sistémica (118) (figura 6).





**Figura 6: Microbiota intestinal, traslocación bacteriana y enfermedad cardiovascular.** Fuente: Trøseid M, Manner IW, Pedersen KK, Haissman JM, Kvale D, Nielsen SD. Microbial translocation and cardiometabolic risk factors in HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2014 Jun;30(6):514-22

Existen evidencias de que las bacterias pueden traslocarse como microorganismos viables y como microorganismos no viables o fragmentos de los mismos (119).

En la estructura bacteriana, el principal componente antigénico es la pared celular por un lado (en el caso de gram negativos a través de lipopolisacárido, en el caso de gram positivos a través de su gruesa capa de peptidoglicano), y por otro lado el DNA bacteriano (120). Estos componentes han sido estudiados como métodos indirectos de traslocación bacteriana debido a su gran estabilidad en la bacteria. En estudios previos, Albillos et al observaron una elevación en los niveles de proteínas de unión al lipopolisacárido en el 30% de los pacientes con cirrosis avanzada y ascitis no infectada, siendo el LBP un marcador muy preciso en la estimación de la endotoxemia (121). Esta aproximación es más rentable que la de detección directa de LPS, al no disponer de un método adecuado para su determinación.

La determinación de LBP puede detectar únicamente traslocación bacteriana por gram negativos, al ser los únicos con LPS en su pared, en comparación con la detección e identificación de DNA bacteriano basado en la reacción en cadena de la polimerasa, que presenta la ventaja de detectar la traslocación bacteriana tanto por gram positivos como por gram negativos.

Debido al uso de este método, que se basa en la detección de DNA bacteriano de una



forma cualitativa, se ha podido llevar a cabo la búsqueda de fragmentos bacterianos en numerosos pacientes. El primer estudio que utilizó este método se realizó en una serie de 34 pacientes con cirrosis y ascitis aséptica. En este estudio inicial, se demostró DNA bacteriano tanto en sangre como en líquido ascítico en el 32% de los pacientes cirróticos y con líquido ascítico no infectado (120). Además, se ha demostrado en estudios sucesivos que en todos los pacientes diagnosticados de peritonitis bacteriana espontánea, incluso en pacientes con cultivo microbiano de líquido ascítico negativo, el DNA bacteriano está presente tanto en sangre como en líquido ascítico (122).

El DNA bacteriano o la endotoxina entre otros productos bacterianos, son potentes activadores de la respuesta celular innata, al aumentar la síntesis de citocinas proinflamatorias y moléculas efectoras produciendo una marcada capacidad proinflamatoria (123).

El DNA bacteriano posee un importante efecto inmunomodulador. Se caracteriza por la presencia de repeticiones cortas de dinucleótidos CpG metilados que se unen al receptor tipo Toll-like 9, presente en las células del sistema inmunitario innato (como macrófagos, células dendríticas y natural killers) (124). Esta combinación induce una clara respuesta inmune de tipo TH1 in vitro y en modelos experimentales, y sintetiza y libera las citocinas presentes en esta vía, incluidas IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (125).

Cuando los fragmentos de DNA bacteriano entran en contacto con los macrófagos, éstos mejoran su capacidad para adherirse a las bacterias y posteriormente internalizarlas (123). Además, al activar a los macrófagos, aumenta la síntesis de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-12. Estas dos últimas citocinas activan las células B y T y regulan la producción de INF $\gamma$  promoviendo así la activación de las células natural killers in vivo e in vitro (126).

De manera similar, la secuencia CpG estimula a las células natural killers para que liberen INF- $\gamma$  (127), lo que a su vez puede aumentar la toxicidad de otros componentes como el LPS (128) y activar la síntesis de óxido nítrico mediante la expresión de una forma inducible de óxido nítrico sintasa lo cual juega un papel importante en la respuesta mediada por macrófagos a agentes infecciosos (129).

Algunos estudios han mostrado datos que sugieren que la presencia de TB, es la principal causa de la inflamación crónica que se produce en la población con infección VIH que reciben TAR eficaz y que se encuentran con un buen control virológico (130,131).

Actualmente se han propuestos diversas estrategias para intentar reducir la traslocación

bacteriana en los pacientes con infección por VIH, entre las que se encuentra el uso de probióticos, sin embargo, los resultados de estos estudios no son del todo concluyentes, como para permitir su introducción en la práctica clínica habitual (132).

## **2.6. Estudios de riesgo cardiovascular**

Desde la introducción de la terapia antirretroviral, ha mejorado de manera importante la supervivencia de los individuos infectados por VIH, lo que ha producido que la prevalencia de esta enfermedad ha aumentado en las últimas décadas, considerándose actualmente como una enfermedad crónica. Asociado a esto, las enfermedades cardiovasculares han pasado a ser una causa importante de morbi-mortalidad en los pacientes con infección por el VIH (133-135). Se estima que para el año 2030, el 73% de las personas con infección por el VIH tendrán 50 años o más, y el 78% tendrán una enfermedad cardiovascular (136).

Este grupo de pacientes tienen mayor incidencia de enfermedad cardiovascular cuando se compara con la población general sin infección por VIH; entre estas se incluyen, infarto agudo de miocardio, insuficiencia cardíaca tanto con fracción de eyección reducida como preservada, muerte cardíaca súbita, enfermedad arterial periférica, y accidente cerebrovascular (133). Una de las mayores revisiones sistemáticas publicada hasta la fecha sobre la enfermedad vascular en pacientes infectados por VIH, es la realizada por Shah et al, en la que se incluye 80 estudios con 793.635 personas con VIH y un seguimiento de 3,5 millones de personas-año. En este metaanálisis, los autores informan que el riesgo relativo de enfermedad vascular en las personas que viven con el VIH es 2,16 (IC del 95%, 1,68-2,77) en comparación con las personas no infectadas. La mortalidad cruda de enfermedad cardiovascular fue de 61,8 (IC del 95%, 45,8-83,4) por 10.000 personas-año. También describen que en los últimos 26 años a nivel de la población global, la fracción de enfermedad cardiovascular atribuible al VIH aumentó de 0,36% (IC del 95%, 0,21-0,56) a 0,92% (IC del 95%, 0,55-1,41) y los valores de años de vida ajustados por discapacidad aumentó de 0,74 (IC del 95%, 0,44-1,16) a 2,57 (IC del 95%, 1,53-3,92) millones. Estos resultados confirman hallazgos descritos en estudios previos, pero a una escala mayor; uno de ellos es que el riesgo de incidencia de eventos cardiovasculares es 2 veces mayor en los pacientes con infección por VIH, lo cual la coloca en el mismo nivel que otros grupos de alto riesgo como los pacientes con diabetes mellitus o hipertensión (40).

A pesar de que la prevalencia de factores de riesgos tradicionales en los pacientes con infección por VIH es mayor que en la población general, esto no explica del todo el mayor riesgo cardiovascular observado en estos individuos, sino que a ello se añade otros factores que se asocian a la propia infección, entre los que se encuentran, la inflamación crónica, la

disfunción endotelial y el TAR (133). En relación a ello, un estudio publicado en 2015 sobre la cohorte VACS VC, que incluye 81.322 participantes (33% con infección por VIH) mostró que menos del 2% de los pacientes con VIH, tenían niveles óptimos de factores de riesgo cardiovasculares tradicionales (137). Sin embargo, el aumento del riesgo de infarto agudo de miocardio en personas con infección por VIH persiste después de ajustar estos factores de riesgo; en la misma cohorte, el aumento del riesgo de infarto de miocardio fue aproximadamente del 50%, después de ajustar por factores de riesgo de Framingham, comorbilidades y abuso de sustancias (37).

Los estudios que se han planteado como objetivo el de analizar la relación entre el riesgo cardiovascular y el TAR en las personas con infección por VIH, expresan resultados controvertidos. Algunos estudios han descrito asociación entre el uso de TAR, principalmente del grupo de los IP, y un mayor riesgo cardiovascular. Un ejemplo de ello es el estudio realizado por Friis-Moller et al, que contó con una muestra de 23.437 sujetos de la cohorte D:A:D con infección por VIH; encontraron que cada año de exposición a los inhibidores de proteasa de primera generación, se asoció con un aumento del 10% del riesgo de infarto agudo de miocardio (71). En cambios en otros estudios se han obtenido resultados diferentes (138,139); entre ellos se encuentra el publicado por Bozzette et al, con una muestra de 36.766 individuos con VIH y un seguimiento de 8,5 años, encontraron que el uso de TAR se asoció a una reducción significativa del riesgo de eventos cardiovasculares (138).

En el estudio START se demostró que las personas con infección por VIH que inician el tratamiento antirretroviral de manera precoz (con recuentos de linfocitos CD4 > 500 células/mm<sup>3</sup>) tienen un riesgo considerablemente menor de desarrollar enfermedades graves asociadas a SIDA y no relacionadas con SIDA en comparación con los pacientes que inician el TAR cuando sus recuentos de linfocitos CD4 alcanzan el umbral de 350 células/mm<sup>3</sup>. Sin embargo en este ensayo clínico, no se pudo demostrar que el inicio precoz del TAR, se asocie a una disminución significativa de la incidencia de eventos cardiovasculares (26).

El aumento del riesgo vascular observado en la población con infección por VIH, es constante en todas las regiones geográficas a nivel mundial, sin embargo, la magnitud de ese riesgo difiere según cada región. Un ejemplo de ello, es que en Estados Unidos el riesgo de eventos cardiovasculares en la población con infección VIH, es mayor si se compara con la de los países europeos. Esta diferencia entre regiones, probablemente sea debida a la variabilidad regional de la prevalencia de los factores de riesgo cardiovasculares, sus

características socioeconómicas y el funcionamiento del sistema sanitario. (140).

En los pacientes con infección VIH los eventos coronarios tienen lugar a una edad más joven; la media de edad suele estar entre los 42 y 50 años, lo que establece una diferencia de más de 10 años en relación a la población general. Otras características del perfil clínico habitual, es que suelen ser hombres, con hábito tabáquico activo y niveles bajos de HDL colesterol. Como podría esperarse de estas características clínicas, los pacientes con infección VIH con un evento coronario, tienden a tener puntuaciones de riesgo TIMI bajas y tienden a tener enfermedad arterial coronaria de un solo vaso en lugar de múltiples vasos. La mortalidad hospitalaria en pacientes con un síndrome coronario agudo e infección por VIH no suele ser alta. La angioplastia coronaria suele ser tan eficaz como en pacientes sin infección por VIH; sin embargo, la reestenosis es más común en infectados por VIH (141-144).

En relación a la población con infección por VIH en España, según datos de la cohorte CoRIS de 2013, la enfermedad cardiovascular ocupaba el quinto lugar en el grupo de los eventos no sida, representando el 9,3% del total, con una tasa de incidencia de eventos cardiovasculares de 2,68 casos por 1000 personas-años (145). Los autores justificaron la baja tasa de incidencia en comparación con los resultados en otras cohortes debido a que los pacientes de la CoRIS eran de menor edad, con un menor tiempo de seguimiento y menor prevalencia de enfermedad coronaria.

La detección de sujetos con elevado riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares es esencial para llevar a cabo medidas preventivas, por lo que debe constituir una parte importante de la valoración clínica de rutina de los pacientes infectados por el VIH (47).

La valoración del riesgo de enfermedad vascular y las estrategias para prevenirla incluye la estimación de la probabilidad individual de padecer un evento de la forma más precisa que se pueda y tomar acciones en función de factores de riesgo. En la mayoría de los casos, utilizando la ecuación derivada del proyecto europeo SCORE o del estudio de Framingham, los riesgos individuales se pueden estimar en función de los factores de riesgo tradicionales (146). Si bien los lineamientos en el caso de los sujetos infectados por el VIH se guían por las directrices de prevención en población general, hay que considerar las características únicas de estos individuos, destacando el estado inflamatorio persistente que suelen asociar, ya que este puede acelerar el desarrollo enfermedad aterosclerótica (73, 147).

Actualmente, existen varios métodos de imagen no invasivos que ayudan a detectar la existencia de patología cardiovascular asintomática, entre las que se encuentra el GIMC, el

índice tobillo-brazo y la cuantificación del calcio en arterias coronarias mediante TAC. De ellas, el GIMC y el ITB, son las más validadas. El ITB se utiliza en el diagnóstico de enfermedad arterial periférica de las extremidades en pacientes sintomáticos y en la valoración del riesgo vascular en sujetos asintomáticos; es una prueba simple y no invasiva con una variabilidad intraobservador baja; un valor patológico ( $<0,90$ ) indica la presencia de enfermedad arterial limitante del flujo que afecta a la extremidad, pero también se considera un indicador de la existencia de arterosclerosis en otras áreas (148). La calcificación de las arterias coronarias medida por TAC se relaciona de forma positiva con la presencia de placa; en los pacientes asintomáticos sin enfermedad cardiovascular aterosclerótica conocida, se ha demostrado que las pruebas de calcificación de las arterias coronarias son consistentemente superiores a las puntuaciones de riesgo estándar para predecir el riesgo cardiovascular (149).

Una vez se establece la existencia de enfermedad coronaria o equivalente cardiovascular, hay que evaluar el riesgo individual y clasificar a los individuos en función de la probabilidad de padecer eventos coronarios, para determinar la intensidad de la intervención y los objetivos de tratamiento de los factores de riesgo cardiovasculares. El riesgo cardiovascular se puede estimar con la ecuación de Framingham o SCORE. La más utilizada es la de Framingham, que incluye la edad, el sexo, el colesterol total, el tabaquismo, la presión arterial sistólica y la diabetes; permite calcular el riesgo de tener un evento coronario en los próximos 10 años (47,150).

El riesgo de tener un evento coronario en los siguientes 10 años se clasifica según la escala de Framingham en bajo ( $<10\%$ ), medio (10-20%) y alto ( $>20\%$ ). Es importante destacar que, de forma independiente de la puntuación obtenida en la ecuación de Framingham, los pacientes que hayan tenido previamente un evento coronario, los pacientes con enfermedad vascular en lechos no coronarios y los que tengan diagnóstico de diabetes se consideran de alto riesgo ( $>20\%$ ) (151).

También es importante destacar que en la ecuación de Framingham no están incluidos factores que puedan afectar el riesgo cardiovascular asociado con el VIH; lo cual puede estar relacionado con que, en varios estudios, el empleo de ésta ecuación infraestima la presencia de enfermedad aterosclerótica en población con infección por VIH (152 - 154).

Ciertos biomarcadores de inflamación, disfunción endotelial y trombosis pueden usarse para la predicción de la presencia de aterosclerosis subclínica en los sujetos infectados por el VIH (147, 155, 156). Los datos del estudio SMART indican que varios marcadores, como IL-6 y PCR, pueden ser poderosos predictores de eventos vasculares (156).

### **3. Arteriosclerosis carotídea subclínica**

#### **3.1 Ecografía carotídea: GIMC, presencia de placas.**

La aterosclerosis subclínica se refiere al proceso aterosclerótico que ocurre en las arterias de personas que no han tenido eventos cardiovasculares previamente. Se ha demostrado el adecuado valor predictivo de los métodos con los que se evalúan, de manera que se puede recomendar su utilización en algunos individuos de riesgo intermedio, y si se obtiene un resultado patológica se debe catalogar de riesgo alto (157). Esta reestratificación permite ofrecer a estos pacientes estrategias de prevención cardiovascular más agresivas.

Los parámetros que se utilizan para valorar la presencia de enfermedad precoz carotídea incluyen el aumento del GIMC, la disfunción endotelial y la formación precoz de placas (158). La disfunción endotelial se puede estudiar de diferentes formas: células endoteliales cultivadas in vitro, biomarcadores endoteliales y estudios de ultrasonido intravascular o no invasivo en arterias coronarias y sangre periférica; aunque no hay evidencia suficiente de que sea un indicador indirecto del riesgo cardiovascular (157).

#### **Ecografía carotídea**

La ecografía carotídea es una técnica muy accesible, económica y no invasiva, validada para evaluar la aterosclerosis sistémica mediante el estudio anatómico del territorio carotídeo (159).

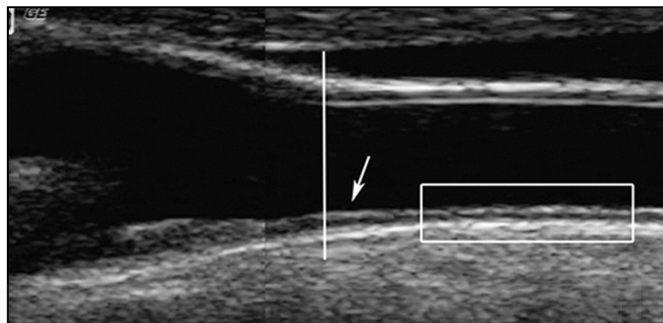
Los signos principales de aterosclerosis que se pueden evaluar mediante ecografía carotídea son el aumento del grosor íntima-media y la presencia de placas de ateromas. Los criterios diagnósticos de estos parámetros, han sido bien establecidos en el último consenso europeo realizado en Mannheim, para evitar heterogeneidad de criterios (160).

#### **Grosor de íntima-media carotídeo:**

El GIMC se objetiva como un patrón de doble línea de las paredes de la arteria carótida, en la proyección longitudinal en modo B. Está formado por dos líneas paralelas, constituidas por el espacio que se encuentra entre la luz de la arteria-íntima y la zona de unión media-adventicia (160). El inicio de la bifurcación carotídea se considera en el lugar en el que la pared anterior y posterior de la ACC comienzan a divergir (161).

En el consenso de Mannheim de 2012, se propuso una medición estandarizada del GIMC, estableciéndose unas series de recomendaciones entre las que se encuentran:

- El GIMC se medirá en una zona libre de placa, en un espacio con longitud de 10 mm y que tenga un patrón de doble línea claramente definido (figura 7).
- La medición debe realizarse de forma preferente en la pared que se encuentra más alejada de la ACC (mínimo 5 mm antes del final a nivel de la bifurcación). Esto evita la variabilidad interindividual inducida por la remodelación fisiológica y existirá una menor dependencia de la ganancia
- El GIMC medio es la media de valores de GIMC del segmento estudiado y GIMC máximo es el valor de GIMC máximo del segmento evaluado (160).



**Figura 7: Árbol carotídeo.** La ubicación de las medidas del grosor íntima-media de la ACC (caja rectangular) es de  $\approx 0,5$  a  $1,0$  cm por debajo del bulbo (línea vertical). Fuente: Polak JF, Pencina MJ, O'Leary DH, D'Agostino RB. Common carotid artery intima-media thickness progression as a predictor of stroke in multi-ethnic study of atherosclerosis. Stroke. 2011 Nov;42(11):3017-21.

Es importante tener en cuenta que los valores de GIMC en el lado izquierdo suelen ser mayores a los del lado derecho, pero sin asociar mayor presencia de placa contralateral (162,163).

A nivel metodológico, el GIMC puede ser medido de forma manual, automatizada o semi automatizada. El método manual es el más empleada pero depende de la experiencia y de la habilidad del ecografista (159, 164-166). Se puede realizar la medición tanto del diámetro externo (adventicia-adventicia) como del interno (luz-luz) para la valoración del grosor de la íntima en relación al diámetro total (167).

Los parámetros de normalidad de GIMC por grupos de edad y sexo en el estudio realizado por Junyent et al, en una cohorte española de 250 pacientes publicado en 2005, mostraron un GIMC medio de  $0,60\text{mm}$  (DS  $0,14\text{mm}$ ) y máximo de  $0,72\text{mm}$  (DS  $0,19\text{mm}$ ) para todas las edades en hombres, y medio de  $0,55\text{mm}$  (DS  $0,16\text{mm}$ ) y máximo de  $0,66\text{mm}$  (DS  $0,19\text{mm}$ ) en mujeres. Los valores aumentaban con la edad: mediana de GIMC  $0,50\text{mm}$  en varones  $\leq 35$  años y de  $0,74\text{mm}$  en  $> 65$  años. En las mujeres:  $0,40$  y  $0,65\text{mm}$ , respectivamente. Se

observó que más de la mitad de los varones a partir de los 55 años y de las mujeres a partir de los 65 años presentaban placas de ateroma (168). En otra cohorte española publicada en 2012 en la que se incluyeron 2161 sujetos, describieron valores del GIMC en ACC con una mediana de 0,72 mm (0,63–0,81 mm) en hombres y 0,67 mm (0,59–0,76 mm) en mujeres (169).

El aumento del GIMC en ACC es de 0,010 mm/año tanto en hombres como en mujeres; en bifurcación de 0,018 mm/año en hombres y 0,015 mm/año en mujeres (170). En la publicación de Junyent et al, sobre población española, estimaron un aumento del GIMC de 0,005 mm/año para hombres y de 0,007 mm/año para mujeres (168).

En general se los valores de normalidad de GIMC varían según la edad, el sexo y la raza. En general se considera normal un GIMC en torno 0,5 mm para adultos jóvenes y en torno a 1,2 mm en el anciano. En cambio otros autores de una forma simplificada, consideran que un GIMC es normal, cuando está por debajo de 0,8 mm (171)

#### **Placa carotídea:**

La placa carotídea es una estructura focal que sobresale hacia la luz arterial. Han existido muchos criterios propuestos para la definición ecográfica en modo B de placa, pero actualmente la más aceptada es la del consenso de Mannheim que la define como una invasión de la luz de al menos 0,5 mm o el 50% del valor del GIMC que la rodea, o bien un GIMC superior a 1,5 mm (160).

En la mayoría de los casos, se puede utilizar una ecografía de alta resolución para evaluar la morfología de la placa. La ecogenicidad de la placa se relaciona con la composición de tejido fibroso, lipídico y calcio. Las hipoecoicas están compuestas principalmente por lípidos, mientras que las hiperecoicas tienen contienen mayormente tejido fibroso y calcio. La placa carotídea rica en lípidos (hipoecoica) se considera un marcador de placa inestable y tiene un alto riesgo de ACV isquémico (172,173). Las hipoecoicas y heterogéneas son más vulnerables y aumentan el riesgo de ictus, incluso en ausencia de estenosis carotídea significativa (172-176).

### **3.2 Aterosclerosis carotídea subclínica**

En varios estudios se ha demostrado que el GIMC tenía la capacidad para predecir el riesgo



de sufrir un evento cardiovascular, tanto cardiacos (161,177-183), como cerebrales (161,177,182-185). En la mayoría de los estudios, esta capacidad predictiva se mantiene tras ajustar según los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales (159). Uno de ellos es el estudio de Li et al, en sus resultados mostraron que individuos normotensos pero con pero con  $\text{GIMC} \geq 0,81$  mm y/o presencia de placas carotídeas tuvieron un riesgo de IAM tres veces mayor que aquellos sin aterosclerosis carotídea, incluso tras ajustar el riesgo a los factores de riesgo cardiovascular clásicos. (186)

Existe evidencia de que el aumento del GIMC puede tener diferencias en cuanto a valor pronóstico, historia natural y factores de riesgo asociados (164). El GIMC en ACC está estrechamente asociado a factores de riesgo que se relacionan con accidentes cerebrovasculares, mientras que el GIMC en bifurcación y la el desarrollo de placas scon un mayor riesgo de cardiopatía isquémica (187-189)

### **Asociación entre el GIMC y los eventos adversos cardiovasculares**

El primer estudio que demostró una asociación entre patología carotídea y eventos coronarios fue el *Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study* (KIHD) publicado en 1991 (190). Posteriormente varios estudios prospectivos *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) (178,184), el *Cardiovascular Heart Study* (CHS) (177), *Carotid Atherosclerosis Progresión Study* (CAPS) (191), *Malmö Diet and Cancer Study* (MDCS) (181,192) y el *Rotterdam Study* (179, 193), demostraron la existencia de una correlación entre el GIMC y el riesgo de eventos cardiovasculares.

En un metanálisis publicado en 2007 por Lorenz et al (n = 37.197 sujetos) y que incluía los estudios KIHD (190), ARIC (178,184), Rotterdam Study (179,193), CHS (177), MDCS (181,192), Longitudinal Investigation for the Longevity and Aging in Hokkaido County (LILAC) (194), el CAPS (191) y un estudio publicado por Kitamura et al en 2004 de 1.289 sujetos (195). Encontraron que RR de infarto agudo de miocardio ajustado por sexo, fue de 1,15 (IC al 95% 1,12-1,17) por cada aumento de 0,1 mm del GIMC a nivel de la ACC, mientras que el RR de accidente cerebrovascular fue de 1,18 (IC al 95% 1,16-1,21) por cada aumento de 0,10 mm (161).

Un metaanálisis más reciente realizado por van den Oord et al en el que incluyó 15 estudios valoró la asociación existente entre el GIMC y eventos cardiovasculares, con resultados muy similares a los obtenidos por Lorenz et al. Objetivaron un aumento de riesgo relativo de infarto agudo de miocardio de 1,15 por cada 0,1 mm de aumento del GIMC (IC 95% 1,12-1,18), y un aumento del riesgo deictus de 1,17 por cada 0,1 mm de aumento del GIMC

(IC 95% 1,15-1,21) con una heterogenicidad entre los estudios de 0 a 37% (baja a moderada) (196).

### **Asociación entre la presencia de placa carotídea y los eventos adversos cardiovasculares**

Diversos estudios han demostrado que la presencia de placa carotídea es un mejor predictor de cardiopatía isquémica en comparación con el GIMC (157,197,198).

En el estudio realizado por Xie et al, con un tamaño muestral de 3.258 sujetos (59% mujeres) y un seguimiento de 5 años, cuyo objetivo fue el de investigar el valor de la presencia de placa carotídea en la predicción del riesgo cardiovascular isquémico (IAM e ictus). Describieron un aumento del riesgo de evento cardiovascular asociado a la presencia de placa en ACC de 1,90 (IC 95%, 1,15-3,13) y con la placa en las bifurcaciones de 1,26 (IC 95%, 0,86-1,85) (199).

El empleo de la ecografía 3D ha permitido la posibilidad de cuantificar el volumen de la placa carotídea. En el estudio de Wannarong et al (N= 343 sujetos), evaluaron la capacidad que tiene el volumen total de la placa carotídea para predecir eventos cardiovasculares. Encontraron que la progresión del volumen total de la placa carotídea permitía predecir la aparición de eventos cardiovasculares ( $p=0,001$ ), capacidad que se mantuvo tras ajustarlo por los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales ( $p=0,001$ ) (200).

### **Aplicabilidad en la práctica clínica habitual**

La progresión de la aterosclerosis a nivel carotídeo identifica a los pacientes de alto riesgo y predice eventos ateroscleróticos que afectan las arterias coronarias, la circulación cerebrovascular y periférica (201,202).

En cuanto a los ensayos clínicos, el GIMC se ha empleado para valorar la efectividad de los hipolipemiantes, antihipertensivos (203) o hipoglucemiantes orales (204). En estudios longitudinales, los pacientes que tomaron fármacos antihipertensivos y los que tenían niveles de colesterol HDL basal más alto tuvieron una menor progresión del GIMC (205). Algunos autores explican que la disminución del GIMC durante el tratamiento se debe a la mayor prevalencia de lesiones compuestas por células espumosas en la ACC, que favorecen el desarrollo de placas arterioescleróticas y a su vez son propensas a la regresión (206).

En cuanto a los segmentos estudiados y los procedimientos de medición, las enormes diferencias metodológicas dificultan la comparación de los resultados entre distintos estudios, lo que es fundamental para estandarizar las técnicas de medición, y de esta forma

sean reproducibles.

En la actualidad, la evidencia existente indica que el GIMC se puede utilizar como indicador de riesgo subrogado de arteriosclerosis (157). Se ha propuesto que la medición del GIMC y la detección de placa carotídea, pueden ser marcadores de utilidad para reclasificar el riesgo cardiovascular en algunos casos entre los que se encuentran los pacientes con un riesgo intermedio. Se reconoce que la medición de GIMC ayuda a evaluar con mayor precisión el riesgo de enfermedad cardiovascular individual, porque puede detectar a individuos con un mayor riesgo que el que expresa los factores de riesgo vasculares clásicos de forma exclusiva (159).

#### Indicaciones de la ecografía carotídea en algunas guías de práctica clínica:

- El *National Cholesterol Education program Adult Treatment Panel III* de 2002 (146), lo identifica como un método para detectar arteriosclerosis subclínica y que permite guiar la elección y/o intensificación de la terapéutica hipolipemiante (146).
- En la *ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias* de 2016 recomiendan utilizar algunos métodos entre los que incluye la presencia de placa carotídea para reclasificar a individuos de riesgo vascular intermedio (indicación clase IIa, nivel de evidencia B). También indican la necesidad de cribado de dislipemias en personas con un GIMC aumentado o con presencia de placa carotídea (207).
- En la *actualización del año 2016 de la ESH/ESC European practice guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice*, indican considerar la medición del GIMC y/o la determinación de placas carotídeas para la estimación del riesgo cardiovascular en adultos asintomáticos con un riesgo moderado con indicación IIb nivel de evidencia B para placa carotídea y como indicación III nivel de evidencia A para el GIMC (208)
- En la *ACC/AHA Guideline on the initial detection of cardiovascular risk* de 2010, establece como razonable la medición del GIMC para establecer el riesgo cardiovascular en adultos asintomáticos con riesgo intermedio con una indicación IIa nivel de evidencia B (209). Sin embargo en la *ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease* del año 2019 no hacen mención a la utilización de la ecografía carotídea para redefinir el riesgo en sujetos de riesgo intermedio (210). Esto probablemente se basa en la escasa estandarización de la

definición y metodología de medición del GIMC, lo cual produce una alta variabilidad y baja reproducibilidad intraindividual.

### **3.3 Arteriosclerosis subclínica**

La etiopatogenia de la enfermedad aterosclerótica en pacientes infectados por el VIH resulta diferente en comparación con la población general. A los mecanismos etiopatogénicos habituales, hay que añadirles aquellos relacionados con la propia infección, los cuales pueden actuar de forma independiente y/o en sinergia con los anteriores (143).

Una variedad de estudios ha confirmado que la infección VIH es un predictor fuerte de enfermedad aterosclerótica subclínica (65,211-213) y de su progresión (211,212,214), de forma independiente a los factores de riesgo vascular (65,211-213). En cambio, otros trabajos no han podido demostrar dicha asociación (215-219) o muestran que está aumentada pero que depende de los factores de riesgo clásicos (220-223).

La aterosclerosis se presenta de forma más precoz en los pacientes con infección por VIH en comparación con los no infectados de la misma edad (224,225), este proceso está asociado a la inflamación persistente y activación inmune (240). Incluso a pesar de recibir TAR, los pacientes pueden tener una replicación viral residual de bajo nivel y/o pueden tener episodios de replicación viral transitoria (241).

En general se cree que la inflamación crónica de bajo grado, contribuye a la progresión acelerada de la enfermedad aterosclerótica (105). La inhibición de la replicación viral se asocia con una menor progresión del GIMC (242). La reconstitución inmunitaria que se produce tras iniciar el TAR produce un aumento de las células CD4+, y a su vez, de la inflamación (213).

Un conteo disminuido de linfocitos CD4+ (243) a pesar de tratamiento antirretroviral efectivo, aumenta el riesgo de muerte, asociada o no a SIDA (incluidas las enfermedades cardiovasculares) (244). En el estudio SMART al comparar los pacientes aleatorizados a interrupción del TAR y los que recibieron tratamiento de forma continua, los primeros tenían un conteo de linfocitos CD4+ más bajo y mayor número de eventos cardiovasculares (245,246).

En varios estudios se ha observado que el estar infectado por VIH, se asocia a enfermedad aterosclerótica asintomática, de manera independiente a los factores de riesgo clásicos y al tratamiento antirretroviral (210,212,247). En el estudio de Hsue et al, se objetivó un significativo aumento del GIMC en todas las subpoblaciones estudiadas en comparación

con los sujetos no VIH, incluyendo el grupo de “controladores de élite” (pacientes con carga viral inferior a 75 copias/mL de forma persistente sin haber recibido nunca TAR) (247); en algunos estudios se ha demostrado que este grupo de pacientes tienen una probabilidad mayor de presentar enfermedad cardiovascular subclínica que los individuos no infectados, a pesar de una carga viral suprimida mantenida en el tiempo. También se ha demostrado que los pacientes controladores tienen la misma probabilidad de tener un evento coronario que los pacientes con TAR que mantienen carga viral suprimida (248). Estos resultados aportan datos de la importancia del TAR en la reducción de activación inmunológica, incluso cuando la replicación viral es mínima.

Con base en estudios transversales es posible afirmar que la infección por VIH está asociada de manera independiente a un aumento de GIMC y al desarrollo de placa carotídea (249).





## **Justificación**

La prevalencia e incidencia de enfermedades no asociadas a inmunodeficiencia están aumentando en la población infectada por el VIH y son superiores a las observadas en población general. Entre estas enfermedades destacan la enfermedad cardiovascular, el deterioro neurocognitivo, el síndrome metabólico, la disminución de densidad mineral ósea, las neoplasias y la enfermedad renal, todas ellas ligadas al proceso de envejecimiento que estaría acelerado en pacientes infectados por el VIH.

La aterosclerosis afecta precozmente a los pacientes infectados por VIH, de forma que el riesgo de IAM e ictus está aumentado respecto a población general pareado por edad y sexo. La mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovasculares clásicos como hipertensión arterial, diabetes, dislipemia y tabaquismo no explican por sí solos este mayor riesgo en esta población; podrían existir otros factores relacionados con el VIH.

La inflamación está implicada en la aparición de la aterosclerosis en el paciente sin infección por el VIH (83). Múltiples estudios de cohortes relacionan la elevación de marcadores inflamatorios, como la PCR ultrasensible, con el desarrollo de eventos cardiovasculares (84).

La relación entre inflamación y aterosclerosis en el paciente con infección por VIH parece ser aún más estrecha que en otros contextos. Es probable que la inflamación se encuentre implicada en todas las fases de desarrollo de la aterosclerosis, pero su papel parece más claro en las fases precoces mediante la inducción de disfunción endotelial (85).

La infección por VIH cursa desde el inicio con aumento importante de marcadores inflamatorios como la PCR ultrasensible, IL6 y TNF-alfa. Diversos estudios muestran cómo el tratamiento antirretroviral se acompaña de una disminución progresiva de la inflamación, pero en la mayoría de casos no se alcanzan valores normales (90).

Se ha demostrado que en los pacientes con infección por VIH que reciben TAR existe correlación entre los marcadores séricos de inflamación y la presencia de inflamación en el endotelio arterial. Los estudios realizados con PET, demuestran que la inflamación arterial es más intensa en el paciente con infección por VIH que en el paciente sin infección por VIH (86). Pero las observaciones más contundentes de la relación entre aumento de marcadores inflamatorios y aterosclerosis derivan de los estudios clínicos. El ensayo SMART, que comparó la evolución de los pacientes que recibían TAR continuo con la de aquellos que lo recibían de forma intermitente, mostró que la elevación de la IL6 y sCD14 se asociaba a mayor riesgo de eventos cardiovasculares y mortalidad (73,93). El ACTG 5078, un estudio prospectivo de 3 años que evaluó la influencia del VIH y el TAR en la progresión

de la aterosclerosis, también la relacionó con los niveles elevados de sCD14 y TNF-alfa (119). Otros estudios observacionales como el FRAM o la cohorte NIAID apuntan en el mismo sentido (88).

El aumento de marcadores inflamatorios que se observa en el paciente con infección por VIH se ha atribuido a la persistencia de replicación viral de bajo nivel en reservorios, a la presencia de coinfecciones como CMV y a la presencia de traslocación bacteriana (85). En el paciente infectado por VIH sin tratamiento antirretroviral es probable que la propia replicación del virus sea el principal factor que induce la inflamación, lo que viene corroborado por el hecho de que el descenso de la viremia asociado a TAR se acompaña de un descenso paralelo de la inflamación. Por el contrario, en el paciente con infección por VIH que recibe TAR, la replicación del VIH es mínima y limitada a determinados reservorios, y la inflamación persistente podría estar ligada sobretudo al fenómeno de traslocación bacteriana (85). Estudios previos sugieren que en los pacientes con TAR, el aumento de marcadores inflamatorios ocurre cuando hay traslocación bacteriana, siendo ésta la que establece la magnitud de la inflamación (131,132).

La TB se produce en la mayoría de los pacientes con infección por VIH *naïve*, y hasta en el 25% de los pacientes con TAR (130). En la práctica clínica, probablemente el método más preciso de determinación de la TB es el estudio del DNA bacteriano comunes a todas las bacterias, a través de la amplificación del gen 16S ribosomal (DNAr) (120). Otros dos marcadores de TB serían el lipopolisacárido, que está en desuso porque sólo identifica a gramnegativos y su determinación tiene dificultades técnicas, y el sCD14, que se produce a partir de la estimulación de los monocito-macrófagos por parte del LPS y que se ha asociado a mayor morbimortalidad en estudios bien diseñados (73,93). No se conoce si los pacientes que en un momento dado presentan TB determinada mediante DNAr, persiste en el tiempo. Los datos que existen de seguimiento de los niveles de sCD14 sugieren que se trata de un fenómeno persistente (119).

El estudio de la relación entre TB e inflamación, por un lado, y aterosclerosis por otro es difícil dada la baja incidencia de eventos cardiovasculares en el paciente con infección VIH, sobretudo si está bien controlado. Por ese motivo, es necesario el estudio de *endpoints* no clínicos como por ejemplo la vasodilatación de la arteria braquial mediada por flujo (marcador de disfunción endotelial) y sobretudo el GIMC, que ha demostrado ser un buen marcador del desarrollo de eventos cardiovasculares (182). Algunos datos prospectivos sugieren que la elevación de marcadores inflamatorios y de traslocación (sCD14) se asocian a un aumento más rápido del GIMC (119), pero los resultados no siempre son concordantes



entre los estudios (250), probablemente debido a tres hechos: el primero es la heterogeneidad de los pacientes estudiados, con un gran número de factores de confusión. El segundo es que la determinación del marcador se realiza en el momento basal y se intenta correlacionar con un *endpoint* posterior en el tiempo, sin tener en cuenta las oscilaciones que pueden sufrir los niveles de ese biomarcador; el tercer hecho podría ser el estudio de marcadores de traslocación inadecuados, bien por presentar dificultades metodológicas, como el LPS, o bien por ser marcadores indirectos, como el sCD14. El marcador directo de TB más útil actualmente es el DNA bacteriano y todavía no ha sido estudiado como predictor de GIMC.

Para poder estudiar la influencia de la traslocación bacteriana sobre el desarrollo de aterosclerosis habría que estudiar un grupo muy homogéneo de sujetos con infección por VIH y cumplir dos requisitos:

- 1) Que los pacientes no tengan factores que puedan alterar el estudio de la TB: mal cumplimiento del TAR, hepatitis crónica, consumo de drogas, enfermedades inflamatorias o infecciosas, cáncer o uso de antibióticos.
- 2) Que se controlen al máximo los factores que puedan influir en el desarrollo de aterosclerosis: diabetes, toma de estatinas, alteración de la homeostasis de la glucosa y de la función renal.

La revisión de la literatura nos ha llevado a plantear un proyecto con la finalidad de estudiar el comportamiento de la TB y de la inflamación, y la repercusión que tiene sobre el desarrollo de aterosclerosis. Para ello hemos diseñado un estudio analítico observacional de casos y controles de pacientes con infección por VIH y buen control virológico desde al menos el último año y hemos establecido criterios de exclusión estrictos de manera que se eliminen los factores de confusión relacionados con el comportamiento de los marcadores de inflamación-traslocación (hepatitis crónica C, coinfecciones, neoplasias, toma de antibióticos...) y con el desarrollo de aterosclerosis (diabetes, hipertensión, dislipemia que requiera estatinas, tabaquismo activo importante).

La variable principal que hemos elegido como marcador de TB es el DNAr, que es en sí mismo un producto bacteriano, a diferencia del sCD14 (que también será estudiado), que es una medida indirecta de la traslocación de LPS. Hasta donde nosotros sabemos, el DNA bacteriano no ha sido estudiado como factor de riesgo de progresión del GIMC, a diferencia del sCD14 y el LPS, de los que sí se dispone de información.

Las variables de inflamación elegidas son la IL6 y el TNF-alfa. Estudios previos han demostrado que la inflamación más intensa se observa en los pacientes con presencia de

DNA bacteriano (131,132).





## **Hipótesis y objetivos**

## 1. Hipótesis

1. Si eliminamos los factores de riesgo clásicos de aterosclerosis (hipertensión arterial, diabetes, tabaquismo importante y dislipemia moderada-severa), el principal responsable de la presencia de aterosclerosis subclínica (determinada por el GIMC y la presencia de placa carotídea) en el paciente con infección por VIH y buen control virológico es la traslocación bacteriana y la inflamación.
2. La traslocación bacteriana, definida por la presencia de DNA bacteriano en sangre, que se observa en el 25% de pacientes con infección por VIH en tratamiento, es la principal responsable de la elevación de marcadores inflamatorios en estos pacientes.



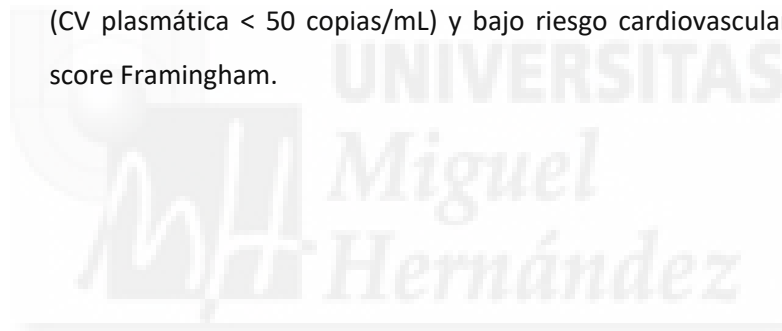
## 2. Objetivos

### Objetivo Principal:

Estudiar la asociación de la traslocación bacteriana e inflamación con la presencia de aterosclerosis subclínica determinada mediante ecografía (GIMC y presencia de placa carotídea) en pacientes con infección por VIH en tratamiento con buen control virológico (CV plasmática < 50 copias/mL).

### Objetivos Secundarios:

- A. Determinar la prevalencia de traslocación bacteriana y los niveles de marcadores inflamatorios en pacientes con infección por VIH en tratamiento con buen control virológico (CV plasmática < 50 copias/mL).
- B. Determinar la prevalencia de aterosclerosis carotídea subclínica determinada mediante ecografía en pacientes con infección por VIH con buen control virológico (CV plasmática < 50 copias/mL) y bajo riesgo cardiovascular medido mediante el score Framingham.





## **Pacientes y métodos**

## **1. Diseño y lugar de estudio**

### **1.1 Diseño**

Estudio analítico observacional de casos y controles. Casos: sujetos con aterosclerosis subclínica determinada mediante ecografía (GIMC y presencia de placa carotídea).

Controles: sujetos sin aterosclerosis subclínica.

### **1.2 Lugar de estudio**

El estudio se realizó en la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario de Alicante; fue aprobado por el comité ético y de investigación clínica del hospital. Todos los pacientes que se incluyeron en el estudio dieron el consentimiento informado por escrito para su participación de forma voluntaria.

## **2. Sujetos del estudio**

### **2.1 Criterios de inclusión:**

- a. Adultos con infección por VIH mayores de 35 años.
- b. Carga viral plasmática de VIH <50 copias/ml durante el último año.
- c. Puntuación de riesgo de Framingham <10%

### **2.2 Criterios de exclusión:**

- a. Mala adherencia al tratamiento antirretroviral (toma autoreferida de < 95% de las dosis previstas en los últimos 15 días).
- b. Hepatitis crónica de cualquier etiología.
- c. Etilismo >30 gr/día.
- d. Consumo de drogas activo.
- e. Tabaquismo activo de más de 5 cig/día.
- f. Enfermedades inflamatorias de cualquier etiología.
- g. Cáncer que no esté en remisión completa.
- h. Infección activa, toma de antibióticos o hemorragia digestiva en el último mes.
- i. Diabetes mellitus (glucosa ayunas >126 mg/dL o HbA1c>6.5%).
- j. Hipertensión arterial.
- k. Toma de corticoides, hipoglucemiantes o estatinas.
- l. Enfermedad cardiovascular conocida.
- m. Insuficiencia renal (ClCr<60 ml/min).
- n. Osteoporosis conocida.

### **2.3 Tamaño muestral:**

Partiendo de datos de la literatura (119,211,242) donde se ha medido el GIMC en pacientes con infección VIH, y teniendo en cuenta que los pacientes con infección por VIH que tienen seguimiento en la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario de Alicante tienen una edad media superior a los 45 años, se asumió que en pacientes con traslocación bacteriana el GIMC sería de aproximadamente  $0,910 \pm 0,330$  mm, y en los que no tienen TB de aproximadamente  $0,707 \pm 0,250$  mm. Con un error alfa del 5%, una potencia del 80% y una relación 1:2 entre los pacientes con y sin TB, el número de pacientes a incluir es de 81.

La Unidad de Enfermedades Infecciosas sigue regularmente a 850 pacientes con infección por el VIH con TAR. De ellos, el 80% tienen CVP-VIH < 50 copias/mL de forma mantenida y alrededor del 40% tendrían algún criterio de exclusión. Por tanto había unos 400 pacientes que potencialmente podían entrar en el estudio.

### **2.4 Forma de selección:**

Todos los pacientes que acudieron de forma consecutiva a consulta de la Unidad de Enfermedades Infecciosas durante el periodo de inclusión y que cumplían los criterios previos eran invitados a participar.

El estudio se llevó a cabo entre Octubre de 2016 – Enero 2017.

## **3. Variables a estudio**

### **3.1 Variables identificadoras**

- Número de historia clínica, iniciales del paciente.

### **3.2 Variables resultado**

- Grosor íntima-media carotídea.
- Presencia o no de placa carotídea.



### 3.3 Variables explicativas

- a. **Sociodemográficas:** nº de historia clínica, fecha de nacimiento, sexo, factor de riesgo para adquisición del VIH (homosexual, heterosexual, transfusión o consumo de drogas por vía parenteral), nivel de estudios.
- b. **Variables relacionadas con la infección VIH:** año del diagnóstico, estadio clínico CDC, linfocitos CD4+ (nadir y actual) y CD8+ actual, cociente CD4+/CD8+, CVP-VIH (copias ARN/ml)
- c. **Variables relacionadas con el TAR:** TAR actual y fecha de inicio. Fecha de inicio del primer TAR. Años manteniendo un TAR de forma ininterrumpida.
- d. **Exploración física:** peso, talla, IMC, índice cintura-cadera, tensión arterial.
- e. **Marcadores de traslocación bacteriana en plasma:** DNAr, sCD14.
- f. **Marcadores de inflamación en plasma:** IL6 y TNF-alfa.
- g. **Comorbilidades asociadas:**
  - Antecedentes de cáncer no definitivo de sida curado
  - Función renal: a) Aclaramiento de creatinina, determinado por CKD-EPI ([www.nephron.com/MDRD\\_GFR.cgi](http://www.nephron.com/MDRD_GFR.cgi)) y b) Proteinuria, definida como (muestra de orina matutina): Proteinuria glomerular: cociente albúmina/creatinina >30 mg/g, o bien, cociente proteínas/creatinina >200 mg/g con cociente albúmina/proteínas >=0.4; Proteinuria tubular: cociente proteínas/creatinina >200 mg/g y cociente albúmina/proteínas <0.4 mg/g.
  - Factores de riesgo vascular:
    - Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular
    - Dislipemia (criterios ATP-IV). Se estudiarán colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos.
    - Homeostasis de la glucosa: Prediabetes: definida por glucemias en ayunas 100-125 mg/dL y/o HbA1c 5.7-6.4% (criterios ADA). Resistencia insulínica: definida como HOMA-IR ≥ 3.8 o insulina basal ≥ 16.7 microU/mL. HOMA-IR = Insulina basal (microU/mL) x glucemia basal (mg/dL) x 0.055 / 22.5.
    - Tabaquismo

- Estilo de vida: ejercicio físico habitual (> 3 horas/semana) o sedentario (< 3 horas/semana)
- Se calculó el riesgo vascular de Framingham con: edad, sexo, colesterol, HDL, y tensión arterial ([hp2010.nhlbihin.net/atpiiii/calculator.asp](http://hp2010.nhlbihin.net/atpiiii/calculator.asp))

#### 4. Recogida de los datos

Tras la firma de consentimiento informado se solicitó el control de análisis de sangre habitual (hemograma, bioquímica, CD4+, CD8+, CVP-VIH y proteinuria) y con la misma venopunción se obtuvo una muestra para el estudio de traslocación bacteriana y de biomarcadores inflamatorios. Asimismo, se solicitó el estudio ecográfico carotídeo.

Los datos clínicos se obtuvieron de las historias clínicas de los pacientes y mediante entrevista personal con los mismos.

La exposición viene definida por la presencia de marcadores de TB (DNA bacteriano, cifra superior a la mediana de sCD14) y de inflamación en plasma (cifra superior a la mediana de IL6 y TNF-alfa) en los pacientes incluidos en el estudio. El estudio de marcadores de TB e inflamación se realizó en el CIBER (Centro de Investigación Biomédica en Red).

##### 4.1 Descripción de la metodología del estudio ecográfico carotídeo

La variable resultado definida por el GIMC y la presencia de placa carotídea se midió mediante ecografía, la cual se realizó con un equipo Hitachi EUB-5500HB, con una sonda lineal de 13-6 MHz, en Modo B, con una profundidad de 40 mm.

Se estudiaron ambas carótidas en el plano longitudinal y lateral con el paciente en decúbito supino, con hiperextensión cervical y la cabeza ligeramente girado hacia el lado contrario al explorado.

Siguiendo los criterios de Mannheim (160), se estudió la carótida común en una región de 22 mm preestablecida por el *software* del equipo, mientras que en carótida interna y bulbo se ajustó al GIMC visualizado. Se obtuvo la media de los datos obtenidos en cada segmento y en cada lado.

El GIMC se define como la distancia entre dos líneas que son las interfaces íntima-lumen y media-adventicia.

La “placa” se define como una estructura focal en la pared interna del vaso que invade la luz arterial al menos 0,5 mm o un 50% del valor del GIM circundante, o que muestra un GIM mayor a 1,5 mm, medido desde la interfaz media-adventicia a la interfaz intima-lumen.

El explorador fue siempre el mismo neurólogo, ciego respecto a los datos clínicos y analíticos del paciente. Para verificar la reproducibilidad, otro neurólogo repitió las mediciones de 16 pacientes elegidos de forma aleatoria.

#### **4.2 Descripción de la metodología del estudio de DNA bacteriano**

Para la detectación e identificación de la presencia de fragmentos de DNAr en sangre, se utilizó la reacción de la cadena polimerasa seguido en su caso de secuenciación automática de nucleótidos, según la metodología descrita previamente en *Such, Hepatology 2002;36:135-4*. Primero se aisló el DNA mediante el Mini Kit QIAmp (QIAgen, Hilden, Alemania) y posteriormente se realizó una amplificación de amplio espectro de una región conservada del gen 16SrRNA de procariotas. Para ello se utilizaron los siguientes primers: 5'-TTCCGGTTCATCCTGCCGGA-3' como forward y 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3' como reverso.

Los amplicones que se obtuvieron fueron cargados en DNA Lab-on-Chips® (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) y se analizaron en un Bioanalizador Agilent 2100 (Agilent Technologies).

Los amplicones fueron purificados mediante un kit QIAquick (QIAgen, Hilden, Alemania) y se usaron para las reacciones de secuenciación parcial de nucleótidos con un Big Dye Terminator versión 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU). El mismo oligonucleótido se utilizó para revertir la amplificación de PCR fue utilizado como secuencia de primers. El producto final fue purificado por precipitación con etanol y acetato y se analizaron en un secuenciador automatizado ABI Prism 310 (Applied Biosystems).

Las secuencias que se obtuvieron fueron comparadas con la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI; [www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) empleando la herramienta de búsqueda avanzada BLAST.

#### **4.3 Descripción de la metodología para la cuantificación de los niveles de citocinas (sCD14, TNF-alfa, IL-6) y carga viral de VIH en sangre**

### **Citocinas (sCD14, TNF-alfa, IL-6)**

La medición cuantitativa de los niveles del marcador de traslocación sCD14 y de los marcadores inflamatorios IL-6 y TNF-alfa de las muestras de sangre, se llevó a cabo mediante ensayos ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) según las instrucciones del fabricante (Human Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, EEUU).

Todas las muestras se analizaron por triplicado y fueron leídas a 490 nm en un lector de microplacas Thermomax (molecular Devices, Sunnyvale, CA, EEUU). El límite inferior de detección de citoquinas de todos los ensayos estuvo entre 5-10 pg / ml. En todos los casos se generaron curvas estándar para cada placa, y se le restó el valor de la densidad óptica del banco a las densidades ópticas de cada muestra

### **Carga viral de VIH**

La CVP-VIH se determinó mediante reacción de la cadena de la polimerasa ultrasensible (COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 vs 2.0, Roche Diagnostics).

## **5. Análisis de datos**

Para el análisis de los datos se utilizó el programa IBM-SPSS 19.1

En primer lugar, se realizó el estudio descriptivo, las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias y/o porcentajes. Las variables cuantitativas se expresan en forma de media y desviación estándar y, las variables que no tienen una distribución normal son presentadas en forma de mediana y rango intercuartílico.

A continuación, se estudió la asociación entre TB (DNAr y sCD14), intensidad de la inflamación (IL6 y TNF-alfa), y comorbilidades con el GIMC y la presencia de placas carotídea.

Para la evaluación de las variables relacionadas con la presencia de placa carotídea, las variables cuantitativas se transformaron en variables dicotómicas utilizando los puntos de cortes con mejor nivel de discriminación en cada caso (mediana, percentil 25 o percentil 75). Se utilizó el test de Chi-cuadrado y se calculó la razón de probabilidades (OR) con su intervalo de confianza del 95% (IC del 95%). Se realizó un análisis de regresión logística incondicional multivariante para reducir el efecto de los factores de confusión e identificar los factores asociados independientemente con la presencia de placa carotídea.

El primer modelo incluyó edad, sexo, FRCV y todas las variables que muestran  $P < 0,20$  en el modelo univariante, a excepción de los biomarcadores. Se realizó un segundo modelo incluyendo biomarcadores. En el tercer modelo, se incluyó la puntuación de riesgo de Framingham en lugar de las variables componentes (edad, sexo, colesterol total, HDL, tabaquismo y presión arterial sistólica).

Para el estudio de las variables relacionadas con el GIMC, se realizó un análisis univariante para determinar las variables relacionadas de forma estadísticamente significativa con el GIM carotídeo. En las variables independientes categóricas dicotómicas se utilizó la prueba T de student de dos muestras independientes. Se analizó la relación lineal entre el GIM y las variables cuantitativas continuas mediante el coeficiente de correlación de Pearson si las dos variables se ajustaban a una distribución normal o la prueba de Rho de Spearman si alguna de las dos variables no se ajustaba a dicha distribución. Se utilizó un análisis de regresión lineal para identificar los factores asociados de forma independiente con el GIMC, incluidas todas las variables con  $P < 0,20$  en el análisis univariante y los considerados clínicamente relevantes.





# **Resultados**

## 1. Estudio descriptivo de la población estudiada

Durante el periodo de estudio se incluyeron 84 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión y ninguno de exclusión.

**1.1 Variables sociodemográficas (tabla 1):** La edad media de la población era de  $45\pm 7$  años; el grupo de edad de mayor prevalencia fue el de 35 – 40 años, representando un 32% del total (figura 8). Se observó una mayor prevalencia del sexo masculino (75%) (figura 9). El factor de riesgo para la adquisición de la infección por VIH más frecuente era la homosexualidad en un 57% de los casos. La mayoría tenían un nivel de estudio básico (38%) seguido del grupo con nivel superior (35%). El 13% de los pacientes eran extranjeros, en su mayoría procedentes de Latinoamérica (11%).



**Tabla 1. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables sociodemográficas**

<b>Total de pacientes</b>	<b>84</b>
Edad (años) *	45 (7)
36 - 40	27 (32%)
41 - 45	24 (29%)
46 - 50	14 (17%)
51 - 55	14 (17%)
56 - 60	5 (6%)
Sexo	
Hombres	63 (75 %)
Mujeres	21 (25 %)
Factor de riesgo para adquisición del VIH	
Homosexual	48 (57%)
Heterosexual	29 (35%)
UDI	5 (6%)
Otros (transfusión, tatuajes)	2 (2%)
Nivel de estudios	
Básico	32 (38%)
Secundario	23 (27%)
Superior	29 (35%)
País de origen	
España	73 (87%)
Latinoamérica	9 (11%)
Resto de Europa	2 (2%)

\* Resultados expresados en media y desviación estándar (DS). VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. UDI: Usuarios de drogas intravenosas.



Figura 8. Distribución según la edad de los pacientes incluidos en el estudio.

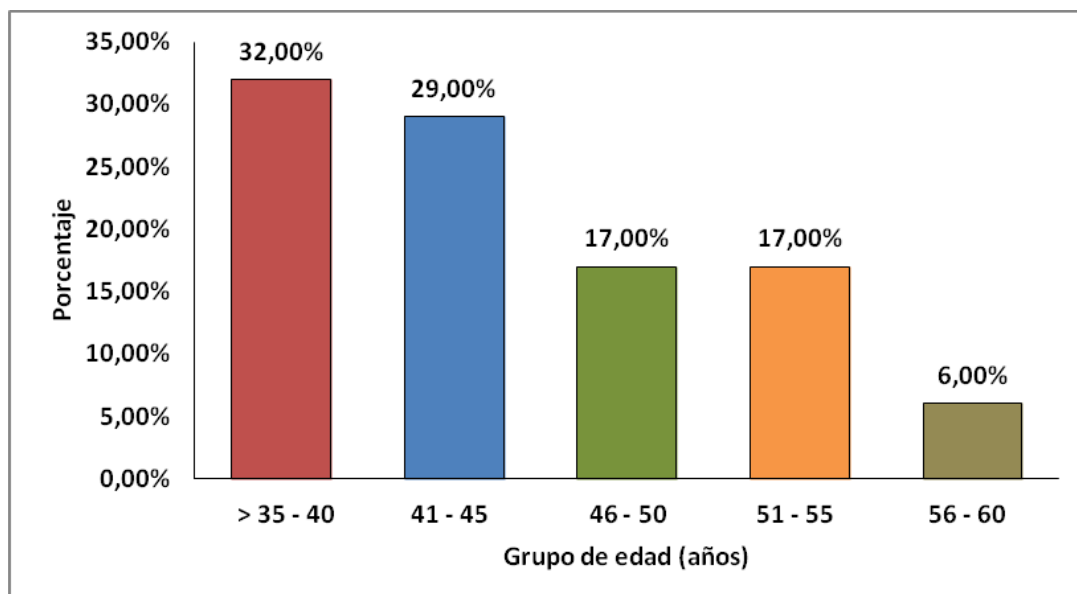
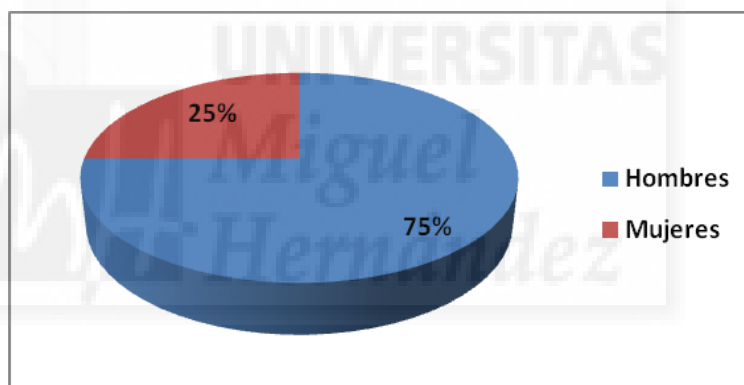


Figura 9. Distribución según el sexo de los pacientes incluidos en el estudio.



**1.2 Variables relacionadas con la infección por VIH y el TAR (tabla 2):** La media de evolución de la infección por VIH en los pacientes incluidos fue de  $12 \pm 7$  años. En cuanto al estadio CDC, el 74% se encontraban en estadio A, 7% en estadio B y 19% en estadio C. El evento definitorio de SIDA más frecuente fue la neumonía por *P. jirovecii*, descrito en 7 pacientes. La media del nadir de linfocitos CD4+ era de  $252 \pm 149$  células/mm<sup>3</sup> y la del número de linfocitos CD4+ actuales era de  $657 \pm 215$  células/mm<sup>3</sup>. La media de la relación de linfocitos CD4/CD8 era de  $0,99 \pm 0,46$ . 77 pacientes (92%) presentaban una carga viral actual de VIH <50 ARN/mL, de los cuales 52 (62%) tenían carga viral indetectable. La mediana del tiempo en que los pacientes se mantuvieron con carga viral de VIH <50 ARN/mL fue de 52 meses (25-104).

La media de exposición al TAR de forma ininterrumpida fue de  $9,2 \pm 7$  años. Al momento de la inclusión en el estudio el 86% en encontraban en tratamiento con ITIAN, 69% con ITINAN, 26% con IP y 20% con INI (figura 10).

**Tabla 2. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables relacionadas con la infección por VIH y el TAR**

Total de pacientes	84
<b>Variables relacionadas con la infección</b>	
<b>VIH</b>	
Años desde el diagnóstico *	12 (7)
Estadio A,B,C	
A	62 (74%)
B	6 (7%)
C	16 (19%)
Estadio 1,2,3	
1	1 (1%)
2	55 (66%)
3	28 (33%)
Evento definitorio de SIDA	
Neumonía por <i>P. jirovecii</i>	7
Tuberculosis pulmonar	2
Linfoma no Hodgkin	3
Sarcoma de Kaposi	3
Candidiasis esofágica	2
Toxoplasmosis cerebral	1
Meningitis criptocócica	1
Coriorretinitis por CMV	1
Linfocitos CD4 nadir (/uL) *	252 (149)
Linfocitos CD4 actual (/uL) *	657,1 (215)
CD8 actual (/uL) **	681,5 (528–957)
CD4/CD8 *	0,99 (0,46)
CVP-VIH actual **	0 (0–10)
CVP > 50	7 (8%)
CVP < 50 detectable	25 (30%)
CVP < 50 indetectable	52 (62 %)
Meses con CVP-VIH < 50 **	52 (25–104)

---

**VARIABLES RELACIONADAS CON EL TAR:**

TAR actual

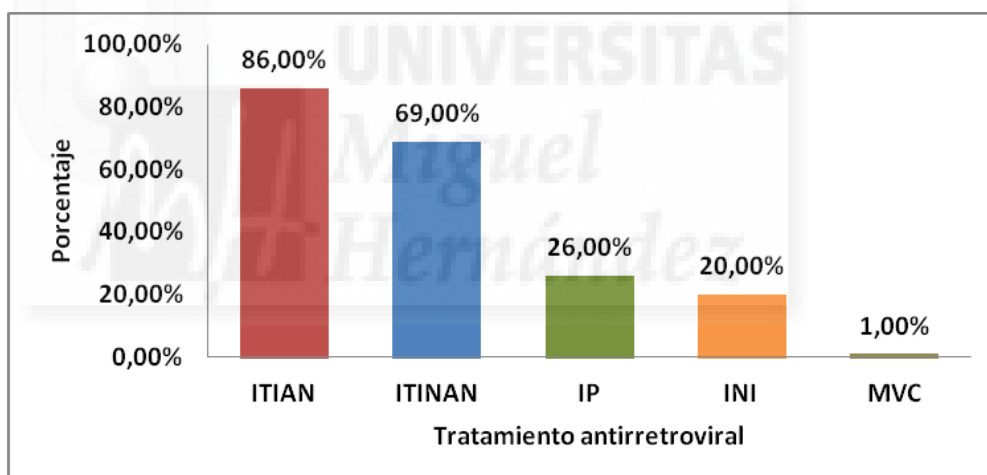
ITIAN	72 (86%)
ITINAN	58 (69%)
IP	22 (26%)
INI	17 (20%)
MVC	1 (1%)

Años en tratamiento ininterrumpido 9,2 (6)

antirretroviral. \*

\* Resultados expresados en media y desviación estándar (DS) \*\* Resultados expresados en mediana y percentiles 25-75. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. CMV: Citomegalovirus. CVP: Carga viral plasmática. TAR: Tratamiento antirretroviral. ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótido. ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos. IP: Inhibidores de la proteasa. INI: Inhibidores de la integrasa. MVC: Maraviroc.

**Figura 10. Tratamiento antirretroviral que recibían los pacientes incluidos en el estudio.**



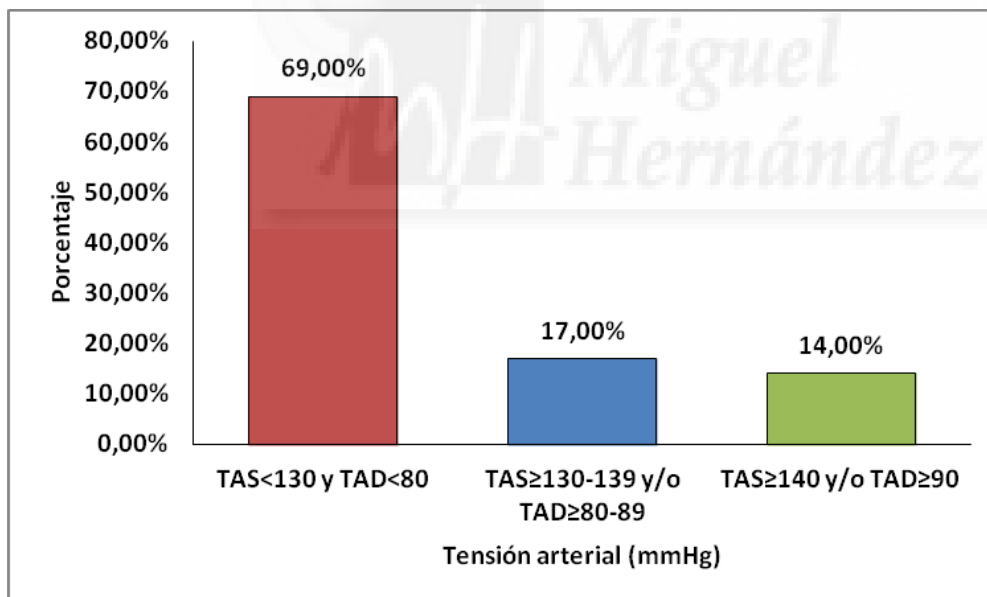
**1.3 Variables de exploración física (tabla 3):** La media de IMC fue de 25,3±3 y del índice cintura cadera fue de 0,91±0,06. En cuanto a las cifras de tensión arterial, la media de la TAS fue de 123,2±17 mmHg y de TAD de 73,1±12 mmHg; el 14% de los pacientes tenían TAS ≥ 140 y/o TAD ≥90 mmHg (figura 11).

**Tabla 3. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de exploración física**

Total de pacientes	84
Peso (Kg) *	76,2 (13)
Talla (m) *	1,72 (0,1)
IMC (Kg/m <sup>2</sup> ) *	25,3 (3)
Bajo peso	2 (2%)
Normal	40(48%)
Sobrepeso	31(37%)
Obesidad grado I	11 (13%)
Indice cintura-cadera *	0,91 (0,06)
TAS (mmHg) *	123,3 (17)
TAD (mmHg) *	73,1 (12)

\* Resultados expresados en media y desviación estándar (DS). IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica

**Figura 11. Cifras de tensión arterial de los pacientes incluidos en el estudio.**



**1.4 Variables de comorbilidades asociadas (tabla 4):** Todos los pacientes tenían un aclaramiento de creatinina CKD-EPI > 60ml/min; en el 8% de detectó algún grado de proteinuria (alb/creat>30 mg/g o prot/creat>200 mg/g). Solo el 10% de los pacientes tenían niveles de 25-OH-vitamina D en rango normal; 85% tenían insuficiencia y el 5% déficit (figura 12). El 49% tenían antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular. En cuanto

al perfil lipídico, se detectó hipercolesterolemia en en el 31% de los casos; la media de colesterol total fue de 181,9±36mg/dL, la de colesterol HDL de 52,1±14 mg/dL y de colesterol LDL 118,6±31 mg/dL; la mediana de triglicéridos fue de 91,5mg/dL (70 – 134).

Se diagnóstico prediabetes (glucemias en ayunas 100-125 mg/dL y/o HbA1c 5.7-6.5%) en 2 pacientes y resistencia insulínica (HOMA> 3.8 o insulina basal > 16.7 microU/mL) en 16 de los casos (19%). El 39% de los pacientes eran exfumadores, el 12 % eran fumadores activos de < 5cig/día (figura 13); la mediana de años/paq de estos 2 grupos fue de 8,2 (4 – 21). El 56% eran sedentarios. La mediana de la puntuación de riesgo de Framingham fue de 1% a los 10 años (0,5 - 4).

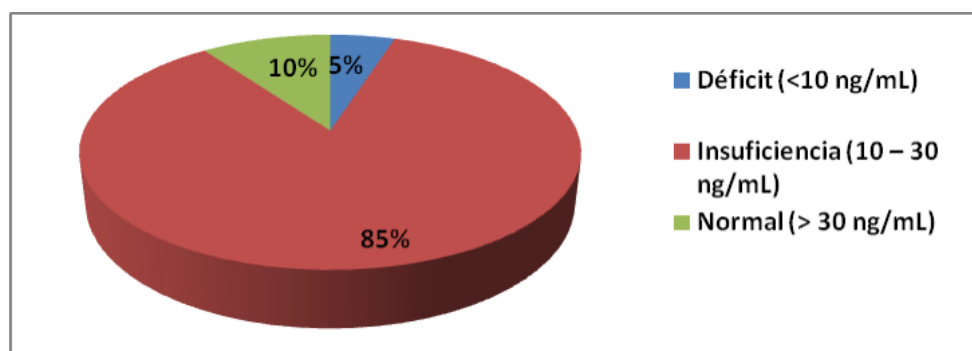
**Tabla 4. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de comorbilidades asociadas**

<b>Total de pacientes</b>	<b>84</b>
Antecedentes de cáncer curado no definitorio de sida	1 (1% - 1LH)
Perfil lipídico	
Colesterol total (mg/dL)*	181,9 (36)
Colesterol HDL (mg/dL)*	52,1 (14)
Colesterol LDL (mg/dL)*	118,6 (31)
Triglicéridos (mg/dL)**	91,5 (70 – 134)
Perfil glucémico	
Glucemia (mg/dL)*	85,6 (10)
HbA1c (%) *	5,1 (0,3)
Insulina (μU/ml)**	9,4 (7 – 15)
HOMA-IR **	1,9 (1,4 – 3,3)
Función renal	
Aclaramiento de creatinina CKD-EPI	
>90ml/min	67 (80%)
60-90 ml/min	17 (20%)
Proteinuria (alb/creat>30 mg/g o prot/creat>200 mg/g)	7 (8%)
Cociente alb/creat (mg/g) **	4 (2 – 7)
Cociente prot/creat (mg/g)**	86,7 (71 – 105)
25-OH-vitamina D (ng/mL) *	20,4 (7)
Déficit (<10 ng/mL)	4 (5%)
Insuficiencia (10 – 30 ng/mL)	71 (85%)

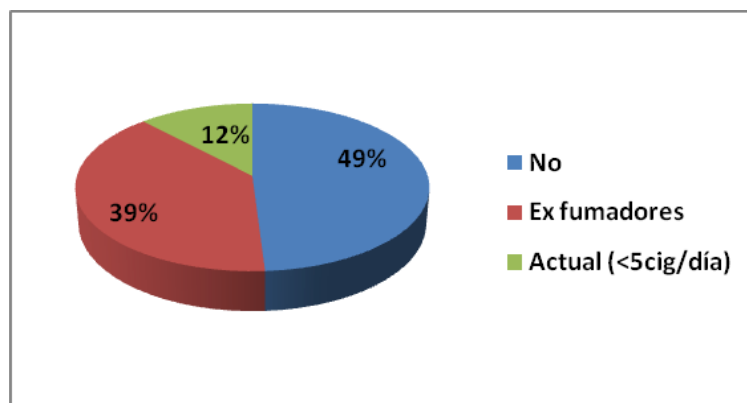
Normal (> 30 ng/mL)	8 (10%)
Factores de riesgo vascular:	
Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular	41 (49%)
Dislipemia	32 (38%)
Hipercolesterolemia	26 (31%)
Prediabetes (glucemias en ayunas 106-125 mg/dL y/o HbA1c 5.7-6.5%)	2 (2%)
Resistencia insulínica (HOMA> 3.8 o insulina basal > 16.7 microU/mL)	16 (19%)
Tabaquismo	
No	41 (49%)
Ex fumadores	33 (39%)
Actual (<5cig/día)	10 (12%)
Años/paq **	8,2 (4-21)
Sedentarismo	47 (56%)
Framingham (%) **	1 (0,5 – 4)

\* Resultados expresados en media y desviación estándar (DS) \*\* Resultados expresados en mediana y percentiles 25-75. HDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad. LDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad. CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology. HOMA: homeostatic model assessment.

**Figura 12. Prevalencia de hipovitaminosis D en la población estudiada.**



**Figura 13. Prevalencia de tabaquismo en la población estudiada.**



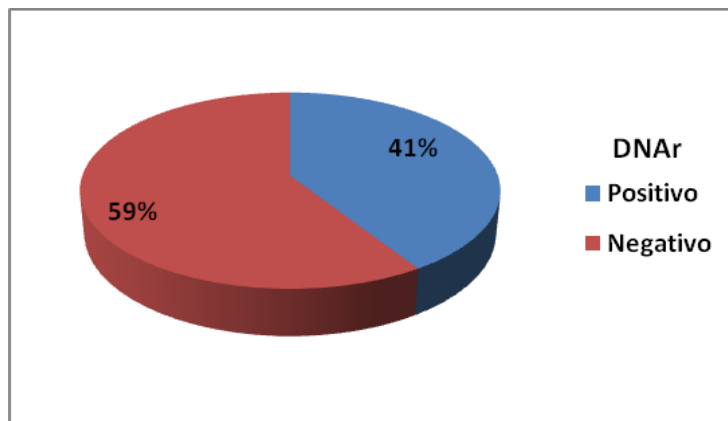
**1.5 Variables de traslocación bacteriana y de inflamación (tabla 5):** La prevalencia de traslocación bacteriana definida como detección de DNA bacteriano (DNAr) positivo fue de 41% (figura 14). La media de la citoquina sCD14 fue de 13,1±4 ng/mL. En relación a los biomarcadores de inflamación, la mediana de IL-6 fue de 6,6 pg/mL (4,2 - 34) y de TNF-alfa fue de 76,1 pg/mL (43 - 78).

**Tabla 5. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de traslocación bacteriana y de inflamación**

<b>Total de pacientes</b>	<b>84</b>
<b>Marcadores de traslocación bacteriana en plasma:</b>	
DNA bacteriano positivo	34 (41%)
sCD14 (ng/mL) *	13,1 (4)
<b>Marcadores de inflamación en plasma:</b>	
IL6 pg/mL **	6,6 (4,2 - 34)
TNF-alfa pg/mL **	76,1 (43 - 78)

\* Resultados expresados en media y desviación estándar (DS) \*\* Resultados expresados en mediana y percentiles 25-75. sCD14: receptor soluble de CD4. IL6: Interleuquina 6. TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa

**Figura 14. Prevalencia de traslocación bacteriana (biomarcador DNAr) en la población estudiada.**



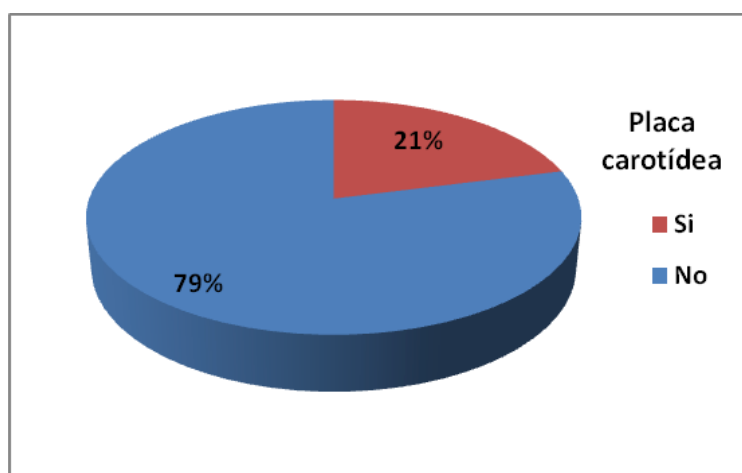
**1.6 Variables de resultado (GIMC y presencia de placa carotídea) (tabla 6):** Se evidenció la presencia de placa carotídea mediante estudio ecográfico en 18 pacientes (21%) (figura 15). La media de GIMC fue de  $0,5595 \pm 0,101$  mm.

**Tabla 6. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de resultado (GIMC y presencia de placa carotídea)**

<b>Total de pacientes</b>	<b>84</b>
Presencia de placa carotídea	18 (21%)
Grosor íntima-media carotídea (mm) *	0,5595 (0,101)

\* Resultado expresado en media y desviación estándar (DS)

**Figura 15. Prevalencia de placa carotídea en la población estudiada.**





## 2. Análisis de la presencia de placa carotídea

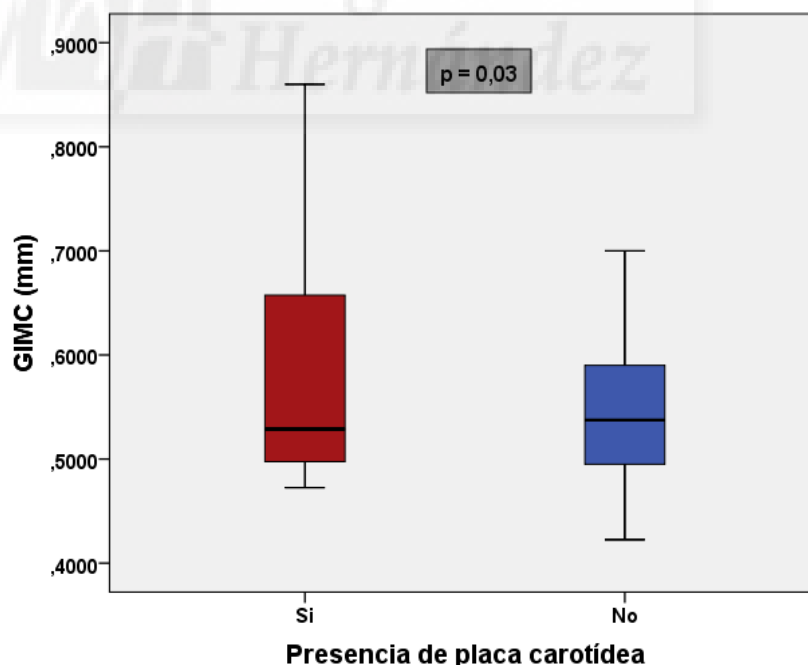
**2.1 Relación entre el GIMC y la presencia de placa carotídea (tabla 7):** El GIMC fue mayor en pacientes con placa carotídea (0,6070 frente a 0,5470 mm,  $p=0,03$ ) (figura 16). Solo tres pacientes tenían GIMC > 0,8 mm, y los tres tenían placa carotídea, por lo que solo se encontró un aumento de GIMC en pacientes con placa carotídea.

**Tabla 7. Cuantificación de la asociación entre GIMC y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado**

	Total N=84	Placa + N=18	Placa – N=66	p
Grosor íntima-media carotídea (mm) *	0,5595 (0,101)	0,607 (0,17)	0,547 (0,07)	<b>0,03</b>
Grosor íntima-media carotídea > 0,8mm	3	3 (100%)	0 (0%)	

\* Resultado expresado en media y desviación estándar (DS)

**Figura 16. Relación entre el GIMC y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.**



**2.2 Variables sociodemográficas y presencia de placa carotídea (tabla 8):** Los sujetos con placas carotídeas tenían una mayor edad, el 83 % de este grupo tenía una edad  $\geq 44$  años en comparación con el 41% en el grupo sin placa ( $p=0,001$ ). No se encontró diferencias

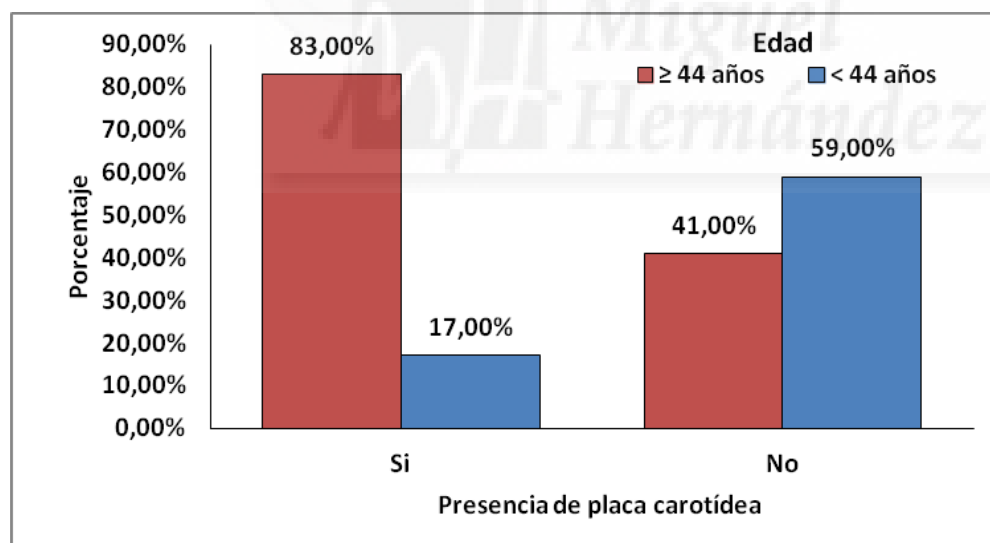
estadísticamente significativas en cuanto al sexo, factor de riesgo para la adquisición de la infección por VIH y país de origen cuando se comparó con el grupo sin placa carotídea.

**Tabla 8. Cuantificación de la asociación entre las variables sociodemográficas y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado**

	Total N=84	Placa + N=18	Placa – N=66	p
Edad ≥ 44 años *	42 (50%)	15 (83%)	27 (41%)	<b>0,001</b>
Sexo (hombres)	63 (75%)	16 (90%)	47 (71%)	0,13
Factor de riesgo para VIH*				0,88
Homosexual	48 (57%)	10 (56%)	38 (58%)	
Heterosexual	29 (35%)	6 (33%)	23 (35%)	
UDI	5 (6%)	2 (11%)	3 (5%)	
País de origen: España	73 (87%)	17 (94%)	56 (85%)	0,29

\* Valor de referencia: mediana. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. UDI: Usuarios de drogas intravenosas.

**Figura 17. Relación entre la edad y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.**



**2.3 Variables de factores de riesgo cardiovascular y la presencia de placa carotídea (tabla 9):** Los individuos con placa carotídea presentaron de forma significativa un mayor riesgo cardiovascular medido mediante la escala de Framingham en comparación con aquellos sin placa carotídea, con una mediana de 5 (1-7) en el primer grupo vs 1 (0,5 – 3) en el segundo grupo (p=0,001). También tenían mayor índice cintura cadera de forma significativa (72% vs 39%, p=0,01) (figura 18).

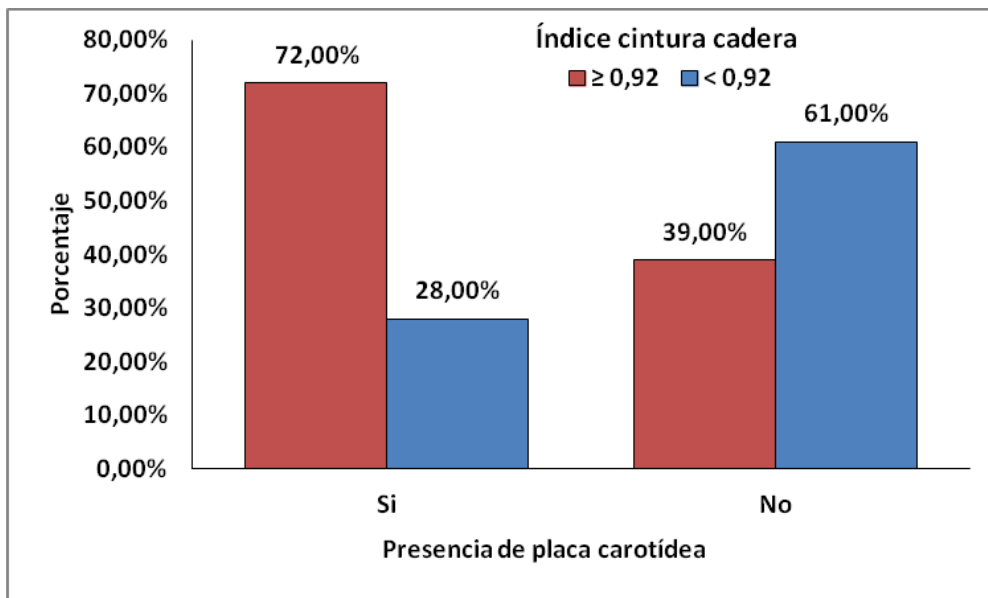
Los pacientes con placa carotídea presentaron, sin ser estadísticamente significativo, mayores valores de tensión arterial, mayor proporción de fumadores actuales y ex fumadores (67% vs 47%, p=0,14) y mayor proporción de antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular (67% vs 44%, p=0,09) que los pacientes sin placa. Tampoco se encontró diferencias en relación a IMC, hipercolesterolemia, glucosa en ayunas alterada, niveles de 25-OH-vitamina D y sedentarismo al comparar ambos grupos.

**Tabla 9. Cuantificación de la asociación entre las variables de factores de riesgo cardiovascular y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado**

	Total N=84	Placa + N=18	Placa – N=66	p
IMC≥25 kg/m <sup>2</sup>	42 (50%)	9 (50%)	33 (50%)	1.0
Índice cintura-cadera ≥ 0,92 *	39 (46%)	13 (72%)	26 (39%)	<b>0,01</b>
TAS ≥ 133 or TAD ≥ 80 mmHg **	24 (29%)	8 (44%)	16 (24%)	0,09
Vitamina D < 30ng/mL	76 (91%)	17 (94%)	59 (89%)	0,52
Hipercolesterolemia > 200mg/dL	26 (31%)	6 (33%)	20 (30%)	0,81
LDL ≥ 130 mg/dL	27 (32%)	7 (39%)	20 (30%)	0,49
Glucosa en ayunas alterada	2 (2%)	0 (0%)	2 (3%)	NC
Tabaquismo (actuales y ex fumadores)	43 (51%)	12 (67%)	31 (47%)	0,14
Fumadores activos	10 (12%)	4 (22%)	6 (9%)	
Exfumadores	33 (39%)	8 (44%)	25 (38%)	
Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular	41 (49%)	12 (67%)	29 (44%)	0,09
Sedentarismo	49 (58%)	12 (67%)	37 (56%)	0,42
Framingham % *	1 (0,5 – 4)	5 (1-7)	1 (0,5 – 3)	<b>0,001</b>

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 75. IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica. LDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

**Figura 18. Relación entre el índice cintura – cadera y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.**



#### **2.4 Variables asociadas con la infección VIH y la presencia de placa carotídea (tabla 10):**

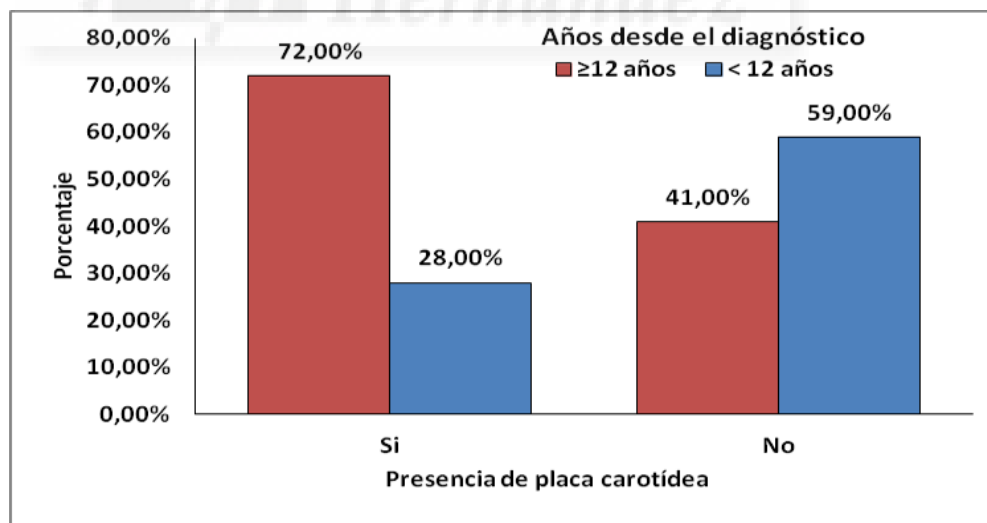
Los pacientes con placa carotídea presentaron mayor tiempo de evolución de la infección por VIH, el 72 % de este grupo tenían  $\geq 12$  años desde el diagnóstico en comparación con el 41% en el grupo sin placa, con una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,02$ ) (figura 19). No se encontraron diferencias significativas en relación al nadir de linfocitos CD4+, número de linfocitos CD4+ actuales y relación de linfocitos CD4/CD8. Los pacientes con placa carotídea presentaron, menor proporción de uso de TAR del grupo de los IP que los pacientes sin placa, sin alcanzar la significación estadística (18% vs 29%,  $p=0,30$ ).

**Tabla 10. Cuantificación de la asociación entre las variables asociadas con la infección VIH y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado**

	Total N=84	Placa + N=18	Placa – N=66	p
Estadio SIDA	16 (19%)	4 (22%)	12 (18%)	0,69
Linfocitos CD4 nadir $\leq 122/uL$ **	21 (25%)	7 (39%)	14 (21%)	0,13
Linfocitos CD4 actual $\leq 515/uL$ **	21 (25%)	7 (39%)	14 (21%)	0,13
Relación CD4/CD8 $< 0,67$ **	21 (25%)	6 (33%)	15 (23%)	0,36
Años desde el diagnóstico de VIH $\geq 12$ *	40 (48%)	13 (72%)	27 (41%)	<b>0,02</b>
Tratamiento antirretroviral:				
No análogos de nucleósido	58 (69%)	15 (83%)	43 (65%)	
Inhibidores de la proteasa	22 (26%)	3 (18%)	19 (29%)	0,30
Inhibidores de la integrasas	17 (20%)	6 (33%)	11 (17%)	
Años de exposición ininterrumpida al TAR $\geq 8$ *	43 (51%)	10 (56%)	33 (50%)	0,68

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 25. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. TAR: Tratamiento antirretroviral.

**Figura 19. Relación entre los años desde el diagnóstico de la infección por VIH y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.**



**2.5 Variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y la presencia de placa carotídea (tabla 11):** En relación a los biomarcadores de traslocación bacteriana, los pacientes con placa carotídea presentaron de forma significativa mayor proporción de DNA bacteriano 61% vs 35% en comparación con los pacientes sin placa ( $p=0,04$ ) (figura 20); no hubo diferencias en la comparación de los niveles de la citoquina sCD14. Respecto a los

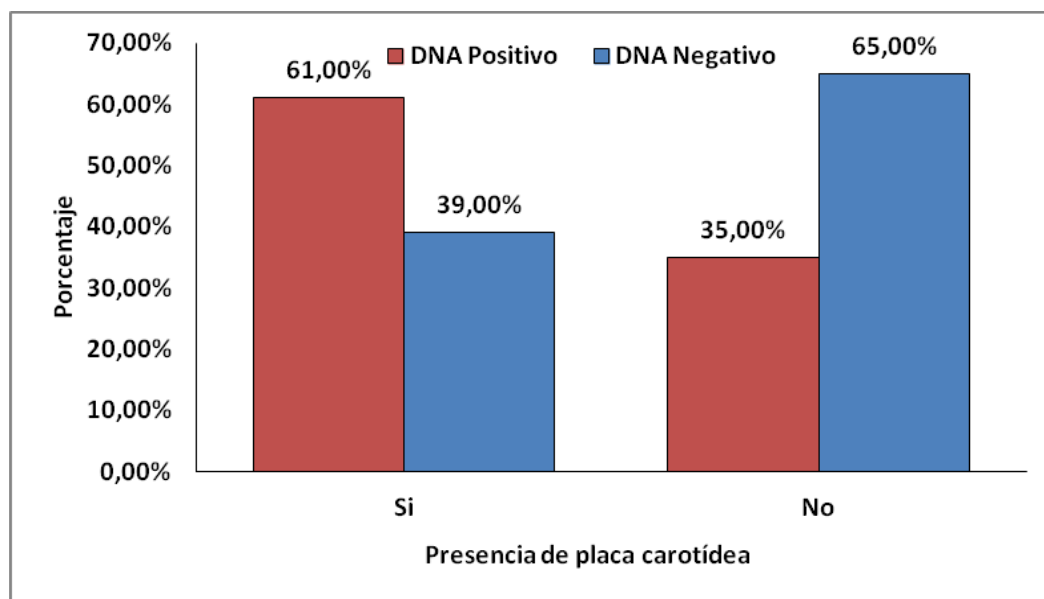
biomarcadores de inflamación, los pacientes con placa carotídea presentaron, de forma estadísticamente significativa, mayores niveles de IL-6; el 78 % de este grupo tenían valores de IL-6 superior a la mediana (6,62 pg/mL) en comparación con el 42% en el grupo sin placa ( $p = 0,01$ ) (figura 21). No se encontró diferencias en la comparación de los niveles de TNF-alfa.

**Tabla 11. Cuantificación de la asociación entre las variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado**

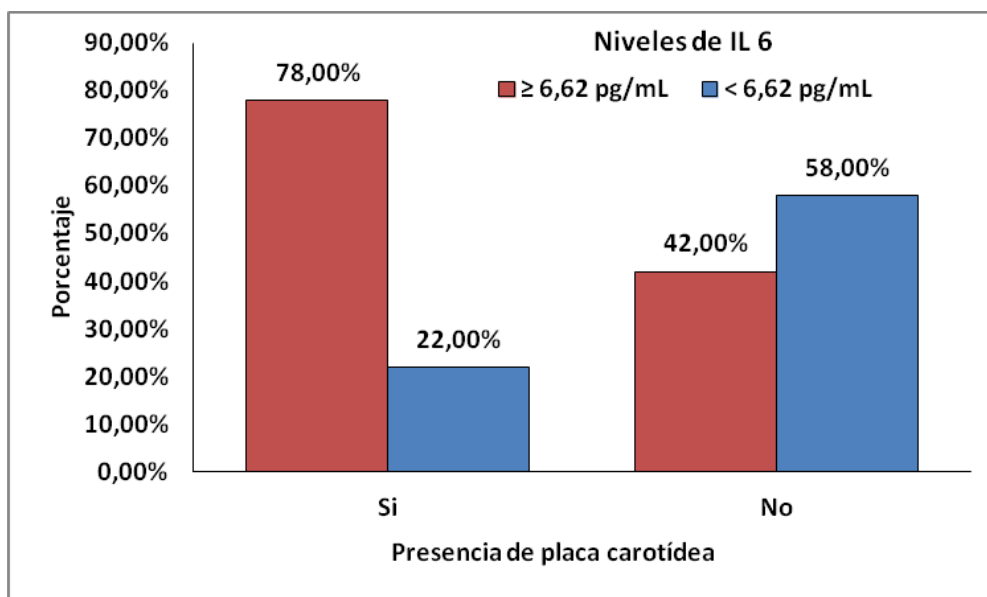
	Total N=84	Placa + N=18	Placa – N=66	p
<b>Marcadores de traslocación bacteriana</b>				
DNA bacteriano positivo	34 (41%)	11 (61%)	23 (35%)	<b>0,04</b>
sCD14 $\geq$ 13,1 ng/mL *	42 (50%)	10 (56%)	32 (49%)	0,60
<b>Marcadores de inflamación</b>				
IL6 $\geq$ 6,62 pg/mL *	42 (50%)	14 (78%)	28 (42%)	<b>0,01</b>
TNF-alfa $\geq$ 76,06 pg/mL *	43 (51%)	9 (50%)	34 (52%)	0,91

\* Valor de referencia: mediana. sCD14: receptor soluble de CD4. IL6: Interleuquina 6. TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa

**Figura 20. Relación entre la traslocación bacteriana (biomarcador DNAr) y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.**



**Figura 21. Relación entre los niveles de IL 6 y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.**



## **2.6 Magnitud de la asociación de los factores de riesgo de aterosclerosis subclínica.**

### **Análisis multivariante**

El primer modelo de análisis multivariante que incluyó edad, sexo, FRCV y variables con  $P < 0,20$  en el análisis univariante, mostró que solo la edad se asoció significativamente con la aterosclerosis subclínica (OR 5,2 para la edad  $> 44$  años,  $P = 0,03$ ) (tabla 12). En el segundo modelo, que incluye biomarcadores, solo la edad y los niveles de IL-6 permanecieron significativamente asociados con la aterosclerosis subclínica, y las razones de probabilidad para la edad  $> 44$  años e IL-6  $> 6,6$  pg/mL fueron 7 (IC 95% 13 - 40,  $P = 0,02$ ) y 9 (IC 95% 1 - 85,  $P = 0,04$ ), respectivamente (tabla 12.1). Cuando la IL-6 no se incluyó en el modelo, el DNAr fue significativo ( $P = 0,03$ ) junto con la edad ( $p = 0,02$ ). En el tercer modelo multivariante que incluye la puntuación de riesgo de Framingham, el índice cintura - cadera ( $p = 0,03$ ), tiempo desde el diagnóstico del VIH ( $p = 0,03$ ) y los niveles de IL-6 ( $p = 0,05$ ) permanecieron significativamente asociados con la aterosclerosis subclínica (tabla 12.2).

**Tabla 12. Magnitud de la asociación de los factores de riesgo con la presencia de placa carotídea. Análisis multivariante**

	Análisis Multivariante			
	Placa +	Placa -	OR (IC 95%)	p
<b>VARIABLES DEMOGRÁFICAS</b>				
Edad ≥ 44 años *	15/18 (83%)	27/66 (41%)	5,2 (1,0-25)	<b>0,03</b>
Sexo (hombres)	16/18 (90%)	47/66 (71%)	2,0 (0,3-13)	0,47
<b>VARIABLES RELACIONADAS CON LA INFECCIÓN VIH</b>				
Linfocitos CD4 nadir ≤ 122/uL **	7/18 (39%)	14/66 (21%)	1,0 (0,3-4,9)	0,9
Linfocitos CD4 actual ≤ 515/uL **	7/18 (39%)	14/66 (21%)	2,9 (0,5-16)	0,21
Años desde el diagnóstico de VIH ≥ 12 *	13/18 (72%)	27/66 (41%)	3,0 (0,5-17)	0,20
<b>VARIABLES ASOCIADAS AL RIESGO CARDIOVASCULAR</b>				
Sobrepeso y Obesidad según IMC	9/18 (50%)	33/66 (50%)	0,5 (0,1-2,5)	0,41
Índice cintura-cadera ≥ 0,92 *	13/18 (72%)	26/66 (39%)	3,6 (0,7-18)	0,12
TAS ≥ 133 o TAD ≥ 80 mmHg ***	6/18 (33%)	14/66 (21%)	1,2 (0,2-6,0)	0,85
Hipercolesterolemia	6/18 (33%)	20/66 (30%)	0,5 (0,1-2,1)	0,35
Tabaquismo (actuales y ex fumadores)	12/18 (67%)	31/66 (47%)	2,5 (0,6-11)	0,22
Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular	12/18 (67%)	29/66 (44%)	1,0 (0,2-4,3)	0,96
Sedentarismo	12/18 (67%)	37/66 (56%)	1,0 (0,2-5,3)	0,96

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 25 \*\*\* Valor de referencia: Percentil 75. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.



**Tabla 12.1 Magnitud de la asociación de los factores de riesgo con la presencia de placa carotídea. Análisis multivariante (incluyendo biomarcadores)**

	Placa +	Placa -	Análisis	
			OR (IC 95%)	p
<b>Marcadores de traslocación</b>				
<b>bacteriana e inflamación:</b>				
DNA bacteriano positivo	11/18 (61%)	23/66 (35%)	1,1 (0,2 – 7,8)	0,95
IL6 ≥ 6,4 pg/mL *	14/18 (78%)	27/64 (42%)	9,3 (1,0 – 85)	<b>0,049</b>
<b>Variables demográficas</b>				
Edad ≥ 44 años *	15/18 (83%)	27/66 (41%)	7,3 (1,3 – 40)	<b>0,02</b>
Sexo (hombres)	16/18 (90%)	47/66 (71%)	1,4 (0,2 – 11)	0,72
<b>Variables relacionadas con la infección VIH</b>				
Linfocitos CD4 nadir ≤ 122/uL **	7/18 (39%)	14/66 (21%)	0,9 (0,1 – 5,4)	0,89
Linfocitos CD4 actual ≤ 515/uL **	7/18 (39%)	14/66 (21%)	3,0 (0,4 – 21)	0,27
Años desde el diagnóstico de VIH ≥ 12 *	13/18 (72%)	27/66 (41%)	0,7 (0,1 – 3,7)	0,67
<b>Variables asociadas al riesgo cardiovascular</b>				
Sobrepeso y Obesidad según IMC	9/18 (50%)	33/66 (50%)	0,5 (0,1 – 2,5)	0,36
Índice cintura-cadera ≥ 0,92 *	13/18 (72%)	26/66 (39%)	5,1 (0,8 – 32)	0,08
TAS ≥ 133 o TAD ≥ 80 mmHg ***	6/18 (33%)	14/66 (21%)	1,6 (0,2 – 10)	0,65
Hipercolesterolemia	6/18 (33%)	20/66 (30%)	0,6 (0,1 – 3,4)	0,56
Tabaquismo (actuales y ex fumadores)	12/18 (67%)	31/66 (47%)	2,1 (0,4 – 12)	0,42
Antecedentes familiares de enfermedad	12/18 (67%)	29/66 (44%)	0,7 (0,1 – 3,7)	0,67

cardiovascular				
Sedentarismo	12/18 (67%)	37/66 (56%)	0,8 (0,1 – 5,3)	0,83

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 25 \*\*\* Valor de referencia: Percentil 75. IL6: Interleuquina 6. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.

**Tabla 12.2. Magnitud de la asociación de los factores de riesgo con la presencia de placa carotídea. Análisis multivariante (incluyendo la escala Framingham)**

	Placa +	Placa -	Análisis Multivariante	
			OR (IC 95%)	p
<b>Marcadores de traslocación bacteriana e inflamación:</b>				
DNA bacteriano positivo	11/18 (61%)	23/66 (35%)	1,0 (0,2 – 6,1)	0,99
IL6 ≥ 6,4 pg/mL *	14/18 (78%)	27/64 (42%)	8,2 (1,0 – 70,2)	<b>0,05</b>
<b>Variables relacionadas con la infección VIH</b>				
Linfocitos CD4 nadir ≤ 122/uL **	7/18 (39%)	14/66 (21%)	0,7 (0,1 – 4,6)	0,74
Linfocitos CD4 actual ≤ 515/uL **	7/18 (39%)	14/66 (21%)	2,5 (0,4 – 14,1)	0,39
Años desde el diagnóstico de VIH ≥ 12 *	13/18 (72%)	27/66 (41%)	4,8 (1,1 – 23,6)	<b>0,03</b>
<b>Variables asociadas al riesgo cardiovascular</b>				
Sobrepeso y Obesidad según IMC	9/18 (50%)	33/66 (50%)	0,5 (0,1 – 2,2)	0,37
Índice cintura-cadera ≥ 0,92 *	13/18 (72%)	26/66 (39%)	6,2 (1,1 – 33,3)	<b>0,03</b>
Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular	12/18 (67%)	29/66 (44%)	1,5 (0,2 – 10,9)	0,68
Sedentarismo	12/18 (67%)	37/66 (56%)	0,9 (0,2 – 4,2)	0,84
Framingham ≥ 2%*	13/18 (72%)	27/77 (41%)	0,9 (0,2 – 4,0)	0,85

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 25 \*\*\* Valor de referencia: Percentil 75. IL6: Interleuquina 6. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. IMC: Índice de masa corporal.

### 3. Análisis del grosor de íntima media carotídea en la población a estudio

**3.1 Variables sociodemográficas y GIMC (tabla 13):** La variable de este grupo asociada de forma significativa a un mayor GIMC fue la edad; los pacientes con edad  $\geq 44$  años tenían una media de GIMC de  $0,588 \pm 0,12$  en comparación con los menores de 44 años que tenían una media de GIMC de  $0,531 \pm 0,07$  ( $p=0,01$ ) (figura 22). Hubo una tendencia no significativa a la asociación entre un mayor GIMC medio y el sexo masculino ( $p=0,09$ ) (figura 23).

**Tabla 13. Cuantificación de la asociación entre las variables sociodemográficas y el GIMC. Análisis univariado**

	Media mm (DS)	p
Edad $\geq 44$ años *		0,01
Sí	0,588 (0,12)	
No	0,531 (0,07)	
Sexo (hombres)		0,09
Sí	0,570 (0,11)	
No	0,527 (0,07)	
Homosexual		0,55
Sí	0,565 (0,08)	
No	0,552 (0,13)	

\* Valor de referencia: mediana

Figura 22. Relación entre la edad y el GIMC en la población estudiada.

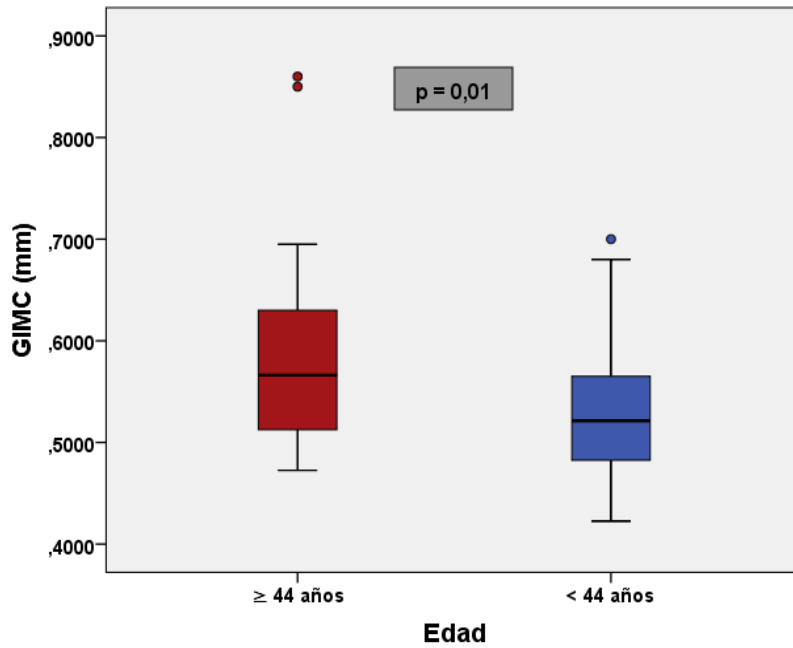
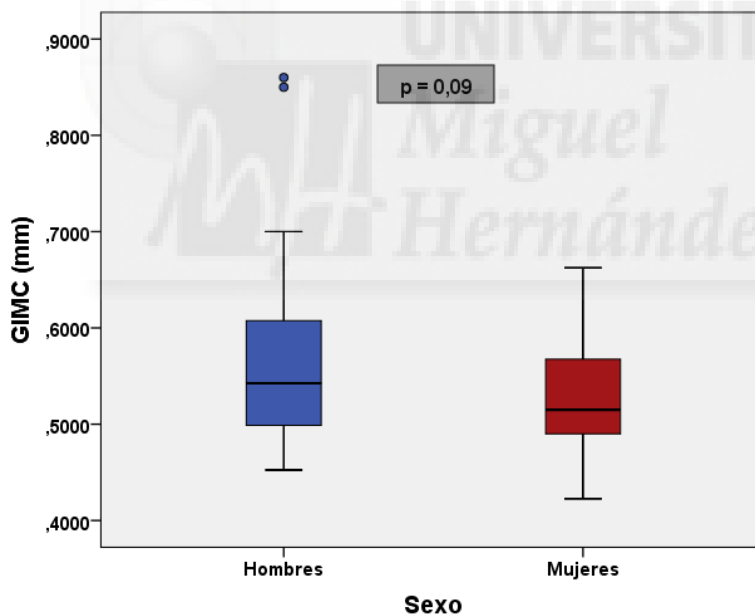


Figura 23. Relación entre el sexo y el GIMC en la población estudiada.



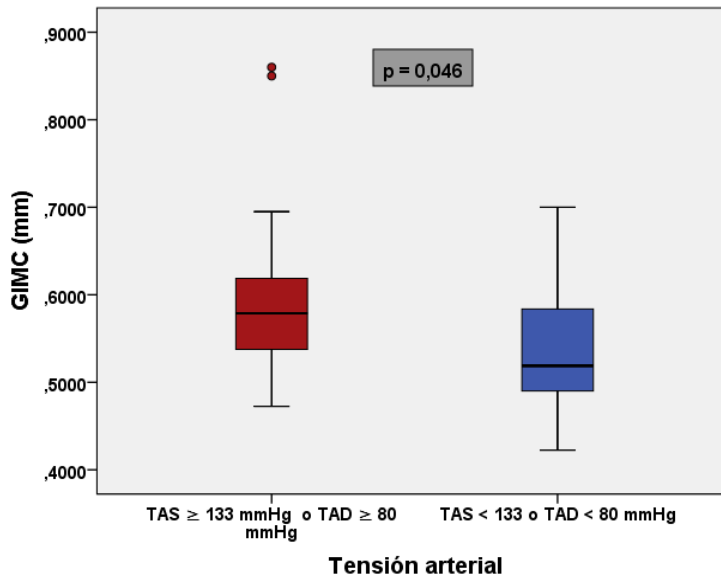
**3.2 Variables de factores de riesgo cardiovascular y GIMC (tabla 14):** Los pacientes con cifras tensionales más elevadas presentaron una media de GIMC mayor, de forma significativa; la media de GIMC en los pacientes con TAS  $\geq 133$  mmHg or TAD  $\geq 80$  mmHg fue de  $0,594 \pm 0,10$  mm en comparación con el grupo de cifras tensionales menores, en el que se observó una media de GIMC de  $0,546 \pm 0,10$  mm ( $p=0,046$ ) (figura 24). No hubo diferencias significativas en relación al resto de factores de riesgo cardiovascular estudiados.

**Tabla 14: Cuantificación de la asociación entre las variables de factores de riesgo cardiovascular y el GIMC. Análisis univariado**

	Media mm (DS)	p
Índice de masa corporal $\geq 25\text{kg/m}^2$		0,52
Sí	0,567 (0,09)	
No	0,552 (0,11)	
Índice cintura-cadera $\geq 0,92$ *		0,39
Sí	0,570 (0,09)	
No	0,551 (0,11)	
TAS $\geq 133$ mmHg o TAD $\geq 80$ mmHg **		<b>0,046</b>
Sí	0,594 (0,10)	
No	0,546 (0,10)	
Vitamina D $< 30$ ng/mL		0,80
Sí	0,560 (0,10)	
No	0,551 (0,09)	
Hipercolesterolemia $>200\text{mg/dL}$		0,25
Sí	0,579 (0,14)	
No	0,551 (0,08)	
LDL $>130\text{mg/dL}$		0,42
Sí	0,573 (0,14)	
No	0,553 (0,08)	
Glucosa alterada en ayunas		0,77
Sí	0,580 (0,02)	
No	0,559 (0,10)	
Tabaquismo (actuales y ex fumadores)		0,91
Sí	0,561 (0,12)	
No	0,558 (0,08)	
Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular		0,55
Sí	0,553 (0,11)	
No	0,566 (0,09)	
Sedentarismo		0,96
Sí	0,560 (0,11)	
No	0,559 (0,09)	

\* Valor de referencia: mediana. \*\* Valor de referencia: Percentil 75. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica. LDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.

Figura 24. Relación entre la tensión arterial y el GIMC en la población estudiada.



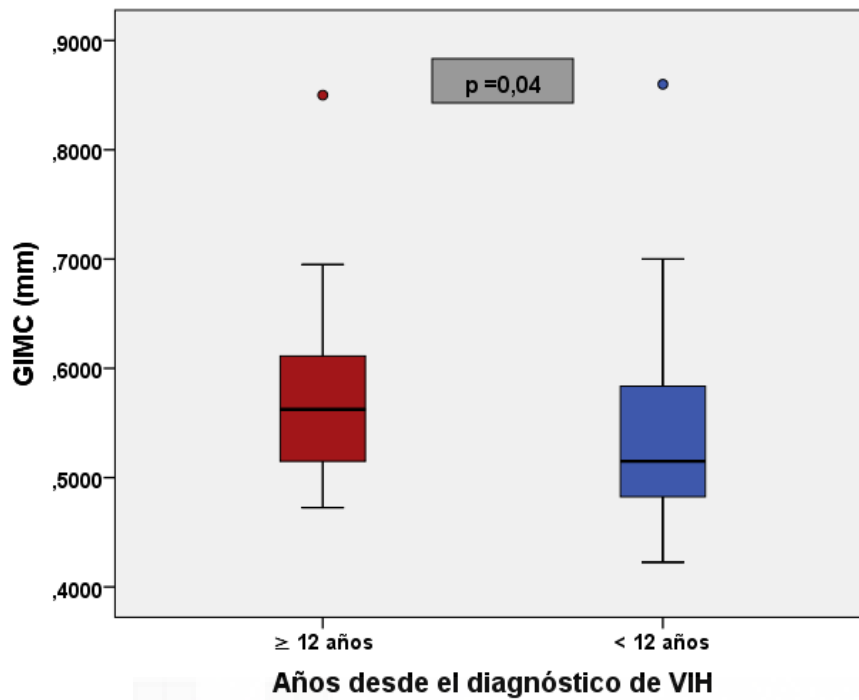
**3.3 Variables asociadas con la infección VIH y GIMC (tabla 15):** Los años de evolución de la infección por VIH se relacionó de forma significativa a mayor GIMC medio; los pacientes con  $\geq 12$  años desde el diagnóstico de la infección por VIH tenían una media de GIMC de  $0,584 \pm 0,11$  en comparación con los de menor tiempo de evolución de la infección que tenían una media de GIMC de  $0,538 \pm 0,08$  ( $p=0,04$ ) (figura 25). Hubo una tendencia no significativa a la asociación entre un mayor GIMC medio y una baja relación CD4 +/CD8 + ( $p=0,14$ ).

**Tabla 15: Cuantificación de la asociación entre las variables asociadas con la infección VIH y el GIMC. Análisis univariado**

	<b>Media mm (DS)</b>	<b>p</b>
Estadio SIDA		0,25
Sí	0,586 (0,09)	
No	0,553 (0,10)	
Linfocitos CD4 nadir $\leq 122/\mu\text{L}$ **		0,21
Sí	0,584 (0,14)	
No	0,552 (0,09)	
Linfocitos CD4 actual $\leq 515/\mu\text{L}$ **		0,78
Sí	0,565 (0,14)	
No	0,558 (0,08)	
Cociente CD4/CD8 $< 0,67$ **		0,14
Sí	0,588 (0,14)	
No	0,550 (0,09)	
Años desde el diagnóstico de VIH $\geq 12$ *		<b>0,04</b>
Sí	0,584 (0,11)	
No	0,538 (0,08)	
Toma de IP		0,24
Sí	0,581 (0,13)	
No	0,552 (0,09)	
Años de exposición ininterrumpida al TAR $\geq 8$ *		0,10
Sí	0,577 (0,11)	
No	0,541 (0,08)	

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 25. SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. IP: Inhibidores de la proteasa. TAR: Tratamiento antirretroviral.

Figura 25. Relación entre los años desde el diagnóstico de la infección por VIH y el GIMC en la población estudiada.



### 3.4 Variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y GIMC (tabla 16):

No se encontraron diferencias significativas en el estudio de la asociación entre los biomarcadores de traslocación bacteriana (DNA bacteriano y sCD14) y de inflamación (IL-6 y TNF-alfa) y el GIMC.



**Tabla 16: Cuantificación de la asociación entre las variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y el GIMC. Análisis univariado**

	<b>Media mm (DS)</b>	<b>p</b>
<b>Marcadores de traslocación bacteriana</b>		
DNA bacteriano positivo		0,47
Sí	0,569 (0,13)	
No	0,552(0,08)	
sCD14 $\geq$ 12,73 ng/mL *		0,87
Sí	0,561 (0,09)	
No	0,558 (0,11)	
<b>Marcadores de inflamación</b>		
IL6 $\geq$ 6,62 pg/mL *		0,54
Sí	0,566 (0,12)	
No	0,553 (0,08)	
TNF-alfa $\geq$ 76,06 pg/mL *		0,27
Sí	0,572 (0,12)	
No	0,547 (0,08)	

\* Valor de referencia: mediana. sCD14: receptor soluble de CD4. IL6: Interleuquina 6. TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa

### **3.5 Magnitud de la asociación de los factores de riesgo y el GIMC. Análisis multivariante**

En el análisis multivariante que incluyó edad, sexo, factores de riesgo cardiovascular y las variables significativas del análisis univariante mostró que sólo la edad permaneció significativamente asociada con un mayor GIMC ( $p=0,02$ ) (tabla 17).

**Tabla17: Magnitud de la asociación de los factores de riesgo y el GIMC. Análisis multivariante**

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	P
	B	Error típ.	Beta		
Constante	,502	,034		14,699	,000
<b>Variables demográficas</b>					
Edad ≥ 44 años *	,059	,025	,293	2,389	<b>,020</b>
Sexo (hombres)	,045	,030	,195	1,495	,139
<b>Variables relacionadas con la infección VIH</b>					
Cociente CD4/CD8 < 0,67 **	,026	,026	,113	,997	,322
Años desde el diagnóstico de VIH ≥ 12 *	-	,025	-,159	-1,292	,201
Años de exposición ininterrumpida al TAR ≥ 8*	-0,21	,030	-,105	-,690	,492
<b>Variables asociadas al riesgo cardiovascular</b>					
Sobrepeso y Obesidad según IMC	,014	,025	,072	,584	,561
Índice cintura-cadera ≥ 0,92 *	-	,028	-,105	-,755	,452
TAS ≥ 133 o TAD ≥ 80 mmHg ***	,019	,030	,086	,634	,528
Hipercolesterolemia	,007	,025	,034	,288	,774
Tabaquismo (actuales y ex fumadores)	,004	,024	,021	,175	,862
Sedentarismo	-	,025	-,116	-,960	,340
	,024				

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 25 \*\*\* Valor de referencia: Percentil 75. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. TAR: Tratamiento antirretroviral. IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.

### **3.6 Reproducibilidad interobservador de GIMC**

La reproducibilidad interobservador calculada a partir de un subconjunto de 16 pacientes fue muy buena con un valor del coeficiente de correlación intraclase de 0,96 (IC del 95% 0,91-0,99).

### **4. Factores asociados con los niveles de DNAr e IL-6**

Dado que el DNA bacteriano y los niveles de IL-6 se asociaron con la aterosclerosis subclínica, es importante determinar los posibles factores de confusión que podrían afectarlos.

No hubo diferencia significativa entre las características basales de los pacientes (factores sociodemográficos, de riesgo vascular y variables relacionadas con el VIH) según la presencia de DNA bacteriano o el nivel de IL-6, con la excepción de una menor prevalencia de pacientes con sobrepeso y obesidad según el IMC en el grupo de pacientes con DNA bacteriano positivo (35% vs 60%,  $p=0,03$ ) (tabla 18), y un mayor número de pacientes que reciben IP y mayores cifras tensionales en el grupo de pacientes con IL-6  $<6,6$  pg/mL, 35% vs 17% ( $p=0,06$ ) y 33% vs 15% ( $p=0,05$ ) respectivamente (tabla 19) .

**Tabla 18: Cuantificación de la asociación entre las características basales de los pacientes y el marcador de traslocación bacteriano DNAr**

	<b>DNA +</b> <b>N=34</b>	<b>DNA –</b> <b>N=50</b>	<b>OR (IC 95%)</b>	<b>P</b>
<b>Variables demográficas</b>				
Edad ≥ 44 años*	16 (47%)	26 (52%)	0,8 (0,3 – 2)	0,66
Sexo (hombres)	27 (79%)	36 (72%)	1,5 (0,5 – 4,2)	0,44
Homosexual	17 (50%)	31 (62%)	0,6 (0,3 – 1,5)	0,28
<b>Variables asociadas con la infección VIH</b>				
Estadio SIDA	7 (21%)	9 (18%)	1,2 (0,4 – 3,6)	0,77
Linfocitos CD4 nadir ≤ 122/uL **	10 (29%)	11 (22%)	1,5 (0,6 – 4)	0,44
Linfocitos CD4 actual ≤ 515/uL**	9 (27%)	12 (24%)	1,1 (0,4 – 3,1)	0,80
CD4/CD8 < 0,67	9 (27%)	12 (24%)	1,1 (0,4 – 3,1)	0,80
Años desde el diagnóstico de VIH ≥ 12*	16 (47%)	24 (48%)	1 (0,4 – 2,3)	0,93
Toma de IP	7 (21%)	15 (30%)	0,6(0,2 – 1,79)	0,34
<b>Factores de riesgo cardiovascular</b>				
Sobrepeso y Obesidad según IMC	12 (35%)	30 (60%)	0,4 (0,2 – 0,9)	<b>0,03</b>
Índice cintura-cadera ≥ 0,92*	13 (38%)	26 (52%)	0,6 (0,2 – 1,4)	0,21
TAS ≥ 133 mmHg ***	5 (15%)	15 (30%)	0,4 (0,1 – 1,2)	0,11
TAD ≥ 80 mmHg ***	5 (15%)	15 (30%)	0,4 (0,1 – 1,2)	0,11
Insuficiencia o déficit vitamina D (< 30 ng/mL)	32 (94%)	44 (88%)	2,2 (0,4 – 11,5)	0,35
Hipercolesterolemia	8 (24%)	18 (36%)	0,6 (0,2 – 1,5)	0,23
Prediabetes	1 (3%)	1 (2%)	1,5 (0,1 – 24,6)	0,78
Tabaquismo (actuales y ex fumadores)	20 (59%)	23 (46%)	1,7 (0,7 – 4)	0,25
Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular	16 (47%)	25 (50%)	0,9 (0,4 – 2,1)	0,79
Sedentarismo	21 (62%)	28 (56%)	1,3 (0,5 – 3,1)	0,60
Framingham ≥ 2%*	17 (50%)	23 (46%)	1,2 (0,5 – 2,8)	0,72

\* Valor de referencia: mediana \*\* Valor de referencia: Percentil 25 \*\*\* Valor de referencia: Percentil 75. SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. IP: Inhibidores de la proteasa. IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.

**Tabla 19: Cuantificación de las asociación entre las características basales de los pacientes el marcador de inflamación IL-6**

	IL6 ≥ 6,6 pg/mL N=41	IL6 < 6,6 pg/mL N=43	OR (IC 95%)	p
<b>Variables demográficas</b>				
Edad ≥ 44 años*	19 (46%)	23 (54%)	0,8 (0,3 – 1,8)	0,51
Sexo (hombres)	32 (78%)	31 (72%)	1,4 (0,5 – 3,7)	0,53
Homosexual	22 (54%)	26 (61%)	0,8 (0,3 – 1,8)	0,53
<b>Variables asociadas con la infección</b>				
<b>VIH</b>				
Estadio SIDA	9 (22%)	7 (16%)	1,5 (0,5 – 4,1)	0,51
Linfocitos CD4 nadir ≤ 122/uL**	12 (29%)	9 (21%)	1,6 (0,6 – 4,2)	0,38
Linfocitos CD4 actual ≤ 515/uL**	12 (29%)	9 (21%)	1,6 (0,6 – 4,2)	0,38
CD4/CD8 < 0,67	9 (22%)	12 (28%)	0,7 (0,3 – 2,0)	0,53
Años desde el diagnóstico de VIH ≥ 12*	18 (44%)	22 (51%)	0,8 (0,3 – 1,8)	0,51
Toma de IP	7 (17%)	15 (35%)	0,4 (0,1 – 1,1)	0,06
<b>Factores de riesgo cardiovascular</b>				
Sobrepeso y Obesidad según IMC	19 (46%)	23 (54%)	0,8 (0,3 – 1,7)	0,51
Índice cintura-cadera ≥ 0,92*	17 (42%)	22 (51%)	0,7 (0,3 – 1,6)	0,37
TAS ≥ 133 mmHg ***	6 (15%)	14 (33%)	0,4 (0,1 – 1,0)	0,05
TAD ≥ 80 mmHg ***	6 (15%)	14 (33%)	0,4 (0,1 – 1,0)	0,05
Insuficiencia o déficit vitamina D (< 30 ng/mL)	38 (93%)	38 (88%)	1,7(0,4 – 7,5)	0,50
Hipercolesterolemia	10 (24%)	16 (37%)	0,5 (0,2 – 1,4)	0,20
Prediabetes	1 (2%)	1 (2%)	1,1 (0,1 – 17,4)	0,97
Tabaquismo (actuales y ex fumadores)	24 (59%)	19 (44%)	1,8 (0,8 – 4,2)	0,19
Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular	23 (56%)	18 (42%)	1,8 (0,8 – 4,2)	0,19
Sedentarismo	26 (63%)	22 (54%)	1,5 (0,6 – 3,6)	0,36
Framingham ≥ 2%	21 (51%)	19 (44%)	1,3 (0,6 – 3,1)	0,52

\* Valor de referencia: mediana. \*\* Valor de referencia: Percentil 25. \*\*\* Valor de referencia: Percentil 75. SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. IP: Inhibidores de la proteasa. IMC: Índice de masa corporal. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.

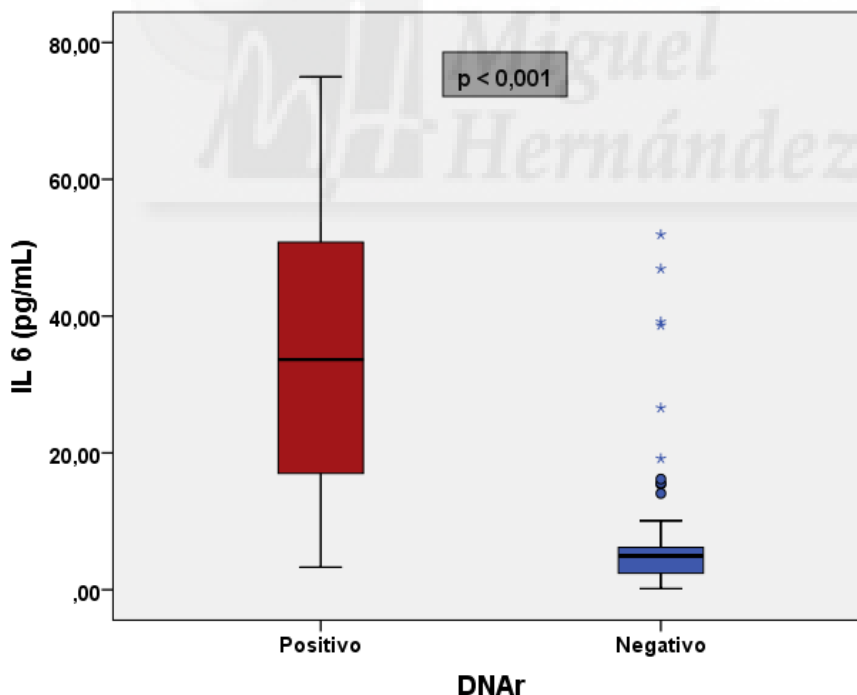
La tabla 20 y la Figura 26 muestran la relación entre la presencia de DNA bacteriano y el nivel de IL-6. Los pacientes con traslocación bacteriano determinado por la presencia de DNA bacteriano tenían una mediana de IL-6 de 34 pg/mL (P 25-75, 17-51), mientras que los pacientes sin traslocación bacteriana tenían una mediana de IL-6 de 4,94 pg/mL (P 25 - 75, 2,4 – 6,2),  $p < 0,001$ .

**Tabla 20: Relación entre los niveles de IL-6 y la traslocación bacteriana (DNAr).**

	<b>DNA + N=34</b>	<b>DNA – N=50</b>	<b>OR (IC 95%)</b>	<b>P</b>
IL6 pg/mL **	33,64 (16,9 –51,1)	4,94 (2,4 –6,2)		<b>&lt;0,001</b>
IL6 $\geq$ 6,6 pg/mL	31 (91%)	10 (20%)	41,3 (10,5 – 163,1)	<b>&lt;0,001</b>

\*\* Resultados expresados en mediana y percentiles 25-75. IL6: Interleuquina 6.

**Figura 26. Relación entre los niveles de IL 6 y la presencia de traslocación bacteriana en la población estudiada.**





## **Discusión**

En este estudio se valora la asociación entre traslocación bacteriana e inflamación y la presencia de arteriosclerosis carotídea subclínica estudiada mediante ecografía, con los parámetros de GIMC y la presencia de placa, en pacientes con infección por VIH en tratamiento antirretroviral y con buen control virológico.

Nuestro estudio muestra que el 21% de los pacientes con infección por VIH en tratamiento antirretroviral, que se encuentran con buen control virológico y que poseen un riesgo cardiovascular bajo determinado por puntuación en la escala de Framingham (1% a los 10 años) tienen aterosclerosis carotídea subclínica, que a su vez, es un marcador de aterosclerosis sistémica y de riesgo cardiovascular. Los dos principales factores de riesgo que se han asociado con la presencia de aterosclerosis subclínica han sido la edad y la inflamación representada por el biomarcador IL-6.

### **1. Características clínicas de los pacientes del estudio**

Los pacientes seguidos en la Unidades de Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario de Alicante tienen alta prevalencia de factores de riesgo cardiovasculares, incluido tabaquismo, hepatitis C y consumo de drogas, por lo que el reclutamiento fue difícil, pero finalmente, pudimos incluir un grupo de pacientes de mediana edad, con una mediana del 1% de puntuación de riesgo de Framingham a 10 años y menor del 8% en todos los casos. Se permitió que el tabaquismo leve establecido por un consumo de <5 cigarrillos al día y la hipercolesterolemia obtuvieran una muestra significativa. Además, intentamos controlar otros factores de confusión excluyendo a los pacientes con hepatitis crónica, insuficiencia renal (filtrado glomerular estimado <60 ml / min) y la ingesta de fármacos (incluidas las estatinas), y registrando las variables que pueden influir en los niveles de biomarcadores como la actividad física o el peso.

La media de la edad fue de 45 años, siendo la muestra más representativa la de los pacientes con edades comprendidas entre los 35 y 40 años (32%), sólo un 6% tenían más de 55 años. Esta muestra representada en su mayoría por pacientes jóvenes, va en congruencia con la exclusión de la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular clásicos diagnosticados previamente en la selección de los pacientes. La mayoría de los pacientes incluidos en el estudio eran hombres en una relación de 3:1.

Con relación a la situación inmunológica y virológica, todos los pacientes tenían una carga viral plasmáticas controlada, siendo el 92% < 50; también tenían un número de linfocitos T-



CD4 alto en el momento del estudio y con una media del nadir superior a 200 céls/ $\mu$ L. Más del 75% presentaban un cociente CD4/CD8 invertido. El 52% de los sujetos llevaban más de 10 años infectados por el VIH.

Con relación a la medición de la tensión arterial, 14 pacientes (17%) presentaron TA sistólica  $\geq$  130 y/o TA diastólica  $\geq$  80 mmHg y 12 pacientes (14%) TA sistólica  $\geq$  140 y/o TA diastólica  $\geq$  90 mmHg. Los 12 pacientes con cifras tensionales elevadas fueron remitidos a sus Centros de Salud para nuevos controles de tensión arterial y confirmación de probable diagnóstico de hipertensión arterial. Esto permite inferir que existe un porcentaje pequeño, pero a la vez significativo de pacientes con infección por VIH que acuden a su consulta habitual de revisión a una Unidad de VIH que pueden presentar hipertensión arterial no diagnosticada. Estos pacientes acuden regularmente para el control de su infección y tienen la percepción de que sus médicos infectólogos controlan la mayoría de sus problemas médicos, evitando con ello acudir a sus médicos de atención primaria. Es probable que este hecho repercuta negativamente sobre sus cuidados de salud y en especial sobre el riesgo cardiovascular, el cual ya de por sí se encuentra aumentado en pacientes con infección por VIH respecto a población general. Es importante controlar la tensión arterial en estos pacientes siguiendo las recomendaciones de las guías de práctica clínica de GeSIDA (47), especialmente en aquellos pacientes con edad  $>$  50 años donde se ha demostrado una mayor prevalencia de hipertensión arterial que en población general pareada por edad y género (44).

El índice cintura cadera es una medida antropométrica que resulta de la división del perímetro de la cintura por el perímetro máximo de la cadera y representa un marcador útil para determinar los efectos adversos que se derivan de la acumulación de tejido graso a nivel abdominal y visceral, representando a su vez un indicador muy bien documentado para identificar a pacientes que se encuentran en riesgo de desarrollar enfermedades cardiometabólicas relacionadas con el sobrepeso y la obesidad (251). Este parámetro suele encontrarse más elevado en pacientes con infección VIH cuando se compara con la población general (252). En nuestro estudio la media de ICC tanto en hombres ( $0,93 \pm 0,06$ ) como en mujeres ( $0,86 \pm 0,05$ ) pueden considerarse elevadas, tomando en cuenta que se trata de una muestra de pacientes clasificados de bajo riesgo cardiovascular.

La prevalencia de hipercolesterolemia (colesterol total  $>$  a 200 mg/mL) fue de 31% y la de hipertrigliceridemia (triglicéridos  $>$ 150 mg/dL) fue de 16,7%, ambos resultados son similares a los descritos en la cohorte española CoRIS (27,8% y 19,7% respectivamente); la de colesterol HDL  $<$ 40 mg/dL si fue menor a la mostrada en dicha cohorte (14,3% vs 36,1%).

El uso de IP como parte del TAR, que son el grupo de fármacos que clásicamente se asocian a un peor perfil lipídico, en nuestro estudio se reportó en el 26% de los casos, dato también muy similar al descrito en la cohorte CoRIS (21%) (50).

El déficit de vitamina D está relacionado con una serie de enfermedades, incluida la enfermedad cardiovascular. En muchos casos se considera un factor de riesgo cardiovascular, ya que se ha demostrado en varios estudios su asociación con un mayor riesgo de accidente cerebrovascular, infarto de miocardio y mortalidad cardiovascular (113). En la actualidad, existe un interés creciente en la relación entre el déficit de vitamina D y la patogenia de la enfermedad cardiovascular aterosclerótica, especialmente en la etapa temprana. La vitamina D no solo parece influir directamente en las células vasculares endoteliales o del músculo liso, sino que también puede estar involucrada en el funcionamiento del sistema inmunológico o en la modulación de la inflamación, contribuyendo así a un desequilibrio de la homeostasis vascular, disminución de la distensibilidad arterial y desarrollo o progresión de la aterosclerosis (114, 115). La prevalencia de insuficiencia o déficit de niveles de 25 (OH) vitamina D (< a 30ng/mL) fue del 90%, lo cual representa una prevalencia muy alta partiendo del hecho de que el estudio se ha realizado en una ciudad mediterránea con un clima soleado la mayor parte del año, pero este resultado está en concordancia con los resultados descritos en otros trabajos realizados en pacientes con infección por el VIH, donde el hallazgo de hipovitaminosis D puede llegar a ser muy frecuente (253-255).

La frecuencia de insulinresistencia (HOMA > 3.8 o insulina basal > 16.7 microU/mL) fue de 19%. La resistencia insulínica se caracteriza principalmente por una menor respuesta fisiológica de los tejidos periféricos diana (muscular esquelético, hígado o tejido adiposo) a la acción de la insulina para lograr el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa. En muchos estudios se ha demostrado que es un predictor independiente de un gran número de enfermedades, entre ellas la DM tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. En población general se ha descrito una prevalencia de un 31% (256). En estudios en población con infección por VIH varía desde un 10 a un 47% (257 – 259). La resistencia a la insulina medida por HOMA-IR presenta una considerable variabilidad en la práctica clínica habitual, lo cual explica la disparidad de resultados en poblaciones diferentes.

## 2. Aterosclerosis carotídea subclínica en la población con infección por el VIH

Un método muy útil para valorar el riesgo vascular es la ecografía carotídea. Esta técnica, permite evaluar la presencia de aterosclerosis carotídea asintomática midiendo los parámetros de aumento del GIMC, y la presencia de placas. La medición mediante ecografía de la aterosclerosis carotídea tiene una considerable variabilidad metodológica, lo cual puede estar en relación con diversos factores, ya sean derivados del paciente, del equipo empleado, del ecografista o de la medida del grosor de íntima-media; quizás de ellos, la forma de adquirir las imágenes sea uno de los factores principales, lo cual depende en muchos casos de la formación y experiencia del explorador (161). En nuestro trabajo se midió el GIMC y la presencia de placas carotídea, como expresión de aterosclerosis carotídea subclínica mediante ecografía. Es importante destacar que existen recomendaciones internacionales para la adquisición y medida del GIMC y placa carotídea (159,160), las cuales se han utilizado como referencia para la realización del presente trabajo.

La presencia de placa carotídea se considera un factor predictor independiente de enfermedad cardiovascular y mejora la estimación del riesgo cardiovascular de los pacientes (210, 211). En nuestro estudio, la prevalencia de placa carotídea fue del 21%. La prevalencia de placa carotídea entre individuos infectados por el VIH tiene una variabilidad importante, dependiendo de las características clínicas de la población estudiada y de la sistemática de medición utilizada. En un estudio realizado en pacientes norteamericanos por Hsue P. et al., la prevalencia de placa carotídea fue del 50%; en este caso se trata de una cohorte con una edad media mayor y con mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovasculares tradicionales, mayor duración de la infección por el VIH y una prevalencia significativa de antecedentes de enfermedad cardiovascular establecido en comparación con las características de los pacientes incluidos en nuestro estudio (210). Hay estudios que describen tasas de prevalencia menores, por ejemplo el estudio publicado por Hanna et al, en el cual analizó la cohorte del *Women's Interagency HIV Study (WIHS)*, describen una prevalencia de placa carotídea del 8%, en una muestra de mujeres con infección por el VIH y con una mediana de edad de 41 años; pero en este estudio también analizan los datos de la cohorte del *Multicenter AIDS Cohort Study (MACS)*, describiendo una prevalencia de placa carotídea en hombres con infección por el VIH del 25% con una mediana de edad de <50 años; este resultado se asemeja al obtenido en nuestro estudio (260). En este mismo sentido, en un estudio realizado por Alcaide et al, en pacientes jóvenes (edad media 36 años), describen una prevalencia de placa carotídea del 24,7% (261). Por último, en un trabajo publicado por Ibañez et al, realizado con población española con infección VIH, con

una media de edad de 45 años, muestran una prevalencia de placa carotídea del 39% (262).

En nuestro trabajo de investigación, hemos encontrado valores de GIMC más bajos que los hallados en otros estudios publicados en pacientes con infección VIH (119, 210, 211, 215, 242, 263-265), y solo en tres pacientes estaban por encima de 0,8 mm, el punto de corte habitual para la definición de GIMC "patológico". Los tres pacientes que tenían GIMC > 0,8 mm, tenían placa carotídea, por lo que solo se encontró un aumento de GIMC en pacientes con placa carotídea.

A lo largo de los años, se han publicado varios estudios en población general española con la finalidad de describir los valores normales del GIMC, pudiendo establecer valores de referencia poblacionales. A pesar de que las características basales de estos estudios y el diseño empleado en nuestro trabajo no permiten inferir una comparativa estadística, tomando como referencia estas mediciones, podemos sugerir que los valores del GIMC objetivados en nuestra serie de pacientes, son más bajos que los de la población general española debido a que la muestra de sujetos de nuestro estudio no es representativa de la población general, al cumplir unos criterios de inclusión y de exclusión bastante estrictos, entre los que se encuentra la ausencia de factores de riesgo tradicionales conocidos como la hipertensión arterial, diabetes o el tabaquismo importante (168, 169).

Numerosos estudios han podido demostrar que existen diferencias en el grosor de íntima media carotídeo entre las personas con y sin infección por el VIH. En este sentido, existe evidencia de que la velocidad de progresión del GIMC es mayor en las pacientes con infección por VIH cuando se compara con la población general, aunque existe cierta variabilidad en los resultados según las características de los pacientes (143, 211). Los individuos con buen control de la infección determinado por una carga viral indetectable presentan tasas de progresión del GIMC más bajas en comparación con aquellas con carga viral no controlada (242).

La estrecha relación de la aterosclerosis subclínica carotídea (medida mediante los parámetros ecográficos de GIMC y placas carotídeas) con la escala de riesgo de Framingham fortalece su papel como indicador de riesgo vascular. La escala de Framingham es un potente predictor de aterosclerosis subclínica en la población general. A pesar de ello, en sujetos con infección por VIH se ha mostrado en diversos estudios que puede llegar a infraestimar la presencia de aterosclerosis carotídea subclínica (154, 266). En nuestro estudio todos los sujetos que tenían placa carotídea presentaron un riesgo cardiovascular bajo (<10%) medido mediante la escala de Framingham, lo cual confirma esta infraestimación; así mismo, nuestros resultados son mayores a los obtenidos en el estudio

de Serrano-Villar y cols., el cual demostró aterosclerosis carotídea (representado por un GIMC elevado o presencia de placa) en un 16,3% de los pacientes con riesgo vascular bajo, medido mediante la escala de Framingham (154).

Un factor que influye de manera determinante en el grosor de íntima media carotídea y en la presencia de placa, es la edad. Esta asociación está muy bien documentada tanto en la población general como en los pacientes con infección por VIH (192, 219). La edad es el factor de riesgo principal en la gran mayoría de los estudios, por lo que el proceso de aterosclerosis puede considerarse como parte del envejecimiento normal. La aterosclerosis aparece a edades más precoces en los pacientes con infección por VIH (140 - 142). La edad se encuentra incluida como variable en prácticamente todas las ecuaciones que se utilizan para la predicción del riesgo cardiovascular en la práctica clínica habitual. En nuestro estudio, tanto el GIMC como la presencia de placa carotídea se correlacionó positiva e intensamente con la edad, relación que se mantuvo en el análisis multivariante; lo cual se encuentra en concordancia con la mayoría de los estudios realizados en este sentido.

En nuestros resultados hemos obtenidos diferencias cercanas a la significación estadística en el GIMC con relación al sexo. La variación del GIMC según el sexo fue de aproximadamente de 0,05 mm mayor en hombres respecto al de las mujeres. La diferencia en los valores del GIMC entre hombres y mujeres está bien descrita en la literatura (168, 169). Sin embargo, no objetivamos diferencias en la prevalencia de placa carotídea según el sexo, aunque observamos una tendencia a una mayor proporción de placa carotídea y a su vez de aterosclerosis carotídea subclínica en varones.

Las variables relacionadas con la infección por el VIH que se estudiaron en este trabajo fueron: carga viral de VIH, conteo de linfocitos T-CD4 en el momento actual, nadir de linfocitos T-CD4, cociente de linfocitos T CD4/CD8 y tiempo de exposición a la infección por VIH. Con relación al TAR, se analizó la pauta de tratamiento del paciente, y el tiempo de exposición al mismo.

En nuestro estudio, la variable asociada con la infección por VIH con mayor importancia clínica fue el tiempo total de exposición a la infección. Esta variable se asoció tanto a un mayor GIMC como a la presencia de placa, aunque esta asociación no se mantuvo en la mayoría de los análisis multivariante; solo se mantuvo la relación en el tercer modelo de análisis de regresión logística incondicional multivariante que se empleó para identificar los factores asociados independientemente con la presencia de placa carotídea, en el que se incluyó la puntuación de riesgo de Framingham en lugar de las variables componentes (edad, sexo, colesterol total, HDL, tabaquismo y presión arterial sistólica).

Estudios previos sí han podido demostrar de forma sólida, una asociación independiente del tiempo de evolución de la infección por VIH con la presencia de aterosclerosis carotídea tras realizar un ajuste por los factores de riesgo vasculares (210, 247). En el estudio publicado por Desvarieux et al, realizaron una comparación entre pacientes con infección por VIH *naïve* (pero con > 2 años desde el diagnóstico) con aquellos en tratamiento antirretroviral (> 4 años), observaron que el aumento de la aterosclerosis carotídea registrada en estos pacientes se relaciona con el tiempo de evolución de la infección por VIH, de una forma independiente al tratamiento antirretroviral que recibían (267).

Se ha descrito en algunos estudios, una correlación independiente tanto de un número bajo de linfocitos CD4+ como de linfocitos CD4+ nadir, con una mayor presencia de placa carotídea o una mayor progresión del GIMC (211, 217, 243). En los resultados derivados de nuestra investigación se observó una correlación indirecta y de baja intensidad para la presencia de placa carotídea y el GIMC con relación al nadir de linfocitos T-CD4 y el nivel de linfocitos T CD4 actual, pero sin llegar a la significación estadística. El nadir bajo de linfocitos T CD4 representa una situación inmunológica comprometida, lo cual a su vez suele coincidir con un peor escenario clínico en el momento del diagnóstico de la infección. Los pacientes que se encuentran en esta situación presentan un nivel de activación inmune aumentado, el cual actúa como un factor que promueve el proceso de aterosclerosis. Por otro lado, cuando tras el inicio del tratamiento antirretroviral el paciente recupera progresivamente los niveles de linfocitos T CD4, el fenómeno de reconstitución inmune que suele asociar podría conferir también un efecto aterogénico (268).

Otro aspecto interesante que hemos podido analizar en relación a las variables asociadas a la infección por VIH ha sido la relación entre el GIMC y la presencia de placa carotídea con el cociente de linfocitos CD4/CD8. La relación que existe entre la proporción de linfocitos T CD4 y linfocitos T CD8 está asociada con el mecanismo de activación inmune. Un cociente de CD4/CD8 bajo (menor de 1) se considera un indicador de inmunosenescencia y en algunos trabajos es considerado un factor predictor de mortalidad por todas las causas (154). En el estudio realizado por Bernal et al., se describe la asociación independiente que existe entre de la inversión del cociente de linfocitos CD4/CD8 con la progresión del GIMC, aportando datos sobre la posibilidad de utilizar este nuevo marcador clínico como un predictor subrogado de enfermedad cardiovascular (269). En nuestro estudio, se encontró una correlación cercana a la significación estadística entre un mayor GIMC y un cociente de linfocitos CD4/CD8 más bajo.

En nuestro trabajo el uso del tratamiento antirretroviral no se correlacionó de manera

significativa con el GIMC ni con la presencia de placa. A pesar de que la exposición a los fármacos antirretrovirales se considera un factor de riesgo independiente para el desarrollo de aterosclerosis subclínica, en la actualidad aún existen muchas interrogantes con relación a la magnitud del efecto que ejerce cada familia de fármacos antirretrovirales sobre el proceso de aterosclerosis o en su caso cada tipo de fármaco de forma independiente (65, 247).

Al analizar la relación para cada familia de fármacos antirretrovirales y el GIMC o la presencia de placa, no hemos encontrado asociación significativa para ninguno de los grupos de TAR. La familia de fármacos antirretrovirales que históricamente más controversia ha causado por su probable relación con un mayor riesgo cardiovascular ha sido la de los IP. Las alteraciones de los lípidos asociadas con los IP han sido descritas en numerosos estudios, con la excepción de atazanavir, el cual posee un mejor perfil lipídico, comparado con el resto de los fármacos de su grupo (77-82). En algunas publicaciones se ha asociado un mayor grosor de íntima media carotídea y un incremento del riesgo cardiovascular con el uso de inhibidores de la proteasa (247). Sin embargo, en otros trabajos no se ha podido demostrar tal asociación o esta se ha considerado de leve intensidad, resultados que se encuentran en concordancia con los puestos de manifiesto en nuestro estudio (211, 212, 215). Probablemente esta disparidad de resultados entre los diferentes estudios de investigación se encuentre en relación con la heterogeneidad de los diseños empleados, la tendencia a no usar este grupo de fármacos en pacientes con un riesgo cardiovascular aumentado de base, el uso concomitante de estatinas en muchos pacientes, lo cual pueden condicionar sesgos en los resultados.

### **3. Papel de la traslocación bacteriana y la inflamación en la aterosclerosis subclínica**

Los estudios de cohortes han sugerido que las enfermedades cardiovasculares son más frecuentes en personas con infección por VIH, y esto no puede explicarse completamente por una mayor prevalencia de los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales como hipertensión arterial, diabetes, tabaquismo o dislipidemia. Parece haber algunos factores directamente relacionados con la infección por el VIH (como la replicación del VIH de bajo nivel) o indirectamente relacionados (como la traslocación bacteriana) que juegan un papel importante. Así mismo, es probable que la inflamación sea el principal mecanismo subyacente al desarrollo de la aterosclerosis en estos pacientes, como suele ocurrir en la

población general (43).

Para definir mejor el impacto de la inflamación en el desarrollo de la aterosclerosis en pacientes con infección por VIH, los estudios clínicos deben centrarse ahora en los pacientes de bajo riesgo cardiovascular y las variables de confusión deben controlarse lo más estrictamente posible. En pacientes con infección por VIH el GIMC está fuertemente asociado con los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales (263).

En nuestros resultados, la inflamación también está intensamente asociada con la aterosclerosis subclínica en ausencia de factores de riesgo vasculares clásicos, por lo que los sujetos con niveles de IL-6 > 6,6 pg /ml tienen un riesgo nueve veces mayor cuando se comparan con aquellos que tienen niveles de biomarcador IL 6 más bajos. La relación entre IL-6, sCD14 y la morbimortalidad (incluida la enfermedad cardiovascular) se ha valorado en modelos animales, estudios de cohortes y ensayos clínicos, aunque no se aplica exclusivamente a pacientes con infección por VIH (270, 271).

En la etapa de infección aguda, el VIH produce un daño grave del tejido linfóide de la mucosa intestinal, produciendo una disminución de los linfocitos de células T. Esto favorece el fenómeno de traslocación bacteriana, el cual se ha asociado a un aumento del riesgo cardiovascular, mediante la estimulación de la activación inmune. En los pacientes con infección crónica por el VIH con buen control virológico, este tejido linfóide intestinal no es restaurado por completo, por lo que persiste una predisposición a la traslocación bacteriana a pesar del TAR (272). La traslocación bacteriana parece favorecer la progresión clínica incluso en los controladores de élite del VIH (pacientes que controlan espontáneamente la carga viral sin TAR) (273). En nuestro estudio, la asociación entre el marcador de TB representado por DNAr y la existencia de aterosclerosis subclínica desapareció en el análisis multivariante, lo que sugiere que el DNAr podría aumentar los niveles de IL-6 (la mayoría de los pacientes con un nivel mayor de IL-6 tienen traslocación bacteriana). El fundamento de un nivel elevado de IL6 en ausencia de DNAr podría ser que la traslocación bacteriana sea un proceso intermitente, también puede deberse a la traslocación de productos bacterianos distintos del DNAr o que sea producida por mecanismos que se relacionan con la traslocación bacteriana, como la replicación viral de bajo nivel en reservorios; en relación a ello, es importante destacar que el papel que tiene la viremia de bajo grado del VIH en plasma sobre el proceso de la inflamación crónica, parece ser menos importante (131).



#### 4. Relevancia de los hallazgos

Se puede decir que en la actualidad aún no se han encontrado modelos que sirvan para predecir óptimamente el riesgo vascular en los pacientes infectados por VIH, por lo que la estimación de dicho riesgo en este colectivo sigue siendo una tarea pendiente. Por esta razón, para muchos autores las estrategias con finalidad preventiva que han sido realizadas tomando como guía los modelos actuales de cálculo de riesgo, resultan controvertidas (274). Según los protocolos actuales establecidos en algunas de las principales guías de práctica clínica para la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular y que tienen su base en el sistema de estratificación de riesgo, un importante número de pacientes con enfermedad carotídea subclínica, tendrían, sin embargo, la recomendación de no recibir tratamiento con estatinas (275).

La determinación de la presencia de aterosclerosis subclínica mediante el uso de ecografía es una muy buena opción que debe ser tomada en cuenta en el momento de decidir sobre el nivel de intensidad del tratamiento farmacológico que debe ser empleado en este perfil de pacientes. En este sentido, el uso de la ecografía ha demostrado entre otras ventajas, ser una técnica más sensible y a la vez más económica para la detección de aterosclerosis subclínica en pacientes con infección por VIH en comparación con otras técnicas de imagen, como, por ejemplo, la tomografía axial computarizada, la cual se usa para demostrar la existencia de depósitos de calcio en las arterias coronarias (276).

Tanto la medición del GIMC mediante ecografía como la descripción de la presencia de placa, son dos elementos que aportan información relevante. Es importante destacar, que cada una tiene un significado clínico y una repercusión pronóstica diferente (164). Por ejemplo, en el caso de las personas más jóvenes, en los que la probabilidad de encontrar placa carotídea es muy baja, la determinación del grosor de íntima media es un marcador que puede aportar información muy valiosa sobre enfermedad vascular incipiente, ya que como se ha descrito anteriormente sus valores se asocian con un aumento del riesgo cardiovascular, actuando como un buen predictor de incidencia de eventos en la población general (193). Por otro lado, la presencia de placa carotídea sin síntomas asociados, como expresión de enfermedad vascular subclínica establecida, multiplica el riesgo de eventos cardiovasculares en estos pacientes. En las personas con infección por VIH, se ha demostrado que el hallazgo de placa carotídea se asocia de una forma independiente con un mayor riesgo de sufrir eventos tanto cardiovasculares como cerebrovasculares, aumentándolo hasta tres y cuatro veces respectivamente (277).

Tanto la medición del GIMC como la determinación de la presencia de placa carotídea,

según lo estipulado en las guías de práctica clínica, están consideradas razonablemente realizarlas en aquellos pacientes en los que en la detección inicial del riesgo cardiovascular, se determine un riesgo intermedio de enfermedad coronaria, es decir, en aquellos sujetos con un riesgo a los 10 años entre el 10 y el 20% de IAM o de muerte asociada a enfermedad coronaria y que no tengan antecedente de enfermedad coronaria establecida o equivalentes de riesgo coronario (159). La determinación del GIMC y de la presencia de placa carotídea, utilizado como un método para detectar aterosclerosis subclínica, sirve para guiar la selección, identificación y establecer el nivel de intensidad del manejo lipídico de estos pacientes (146), también puede ser útil en la detección de daño de órgano diana asociado a la hipertensión arterial (210).

Es llamativo el hallazgo en nuestro estudio, de una prevalencia de aterosclerosis carotídea subclínica del 21% en estos pacientes con infección por VIH de bajo riesgo cardiovascular. Este resultado es de gran importancia porque la presencia de placa predice de forma independiente el riesgo de eventos cardiovasculares (210).

En la población general, los pacientes con puntuación de Framingham baja sin placa carotídea tienen un índice de riesgo cardiovascular casi nulo. Sin embargo, para los pacientes de bajo riesgo de Framingham con placa carotídea, el riesgo cardiovascular es del 10% a los 8 años, un valor que los situaría cerca de un riesgo de Framingham moderado (183). Algunos estudios sobre pacientes con infección por VIH con placa carotídea asintomática sugieren que este riesgo podría ser incluso superior al 10% y a más corto plazo (277), y la razón podría ser que las placas ateroscleróticas que se presentan en los pacientes con infección por VIH, están más frecuentemente asociadas a signos de vulnerabilidad, es decir, suelen ser no calcificadas, más blandas y más propensas a romperse (183, 278).

Las directrices actuales para el tratamiento de los factores de riesgo vasculares de la población con infección por VIH establecen estrategias basadas principalmente en el riesgo cardiovascular estimado mediante ecuaciones como la puntuación de riesgo de Framingham y la calculadora de riesgo de enfermedad cardiovascular de la ACCC / AHA (279). El punto es que estas puntuaciones pueden infraestimar el riesgo real en los sujetos con infección por VIH, como han sugerido los estudios de cohortes (152), y algunos pacientes que actualmente se consideran de bajo riesgo, tienen en realidad un riesgo moderado, y deben considerarse para un control más agresivo de la enfermedad cardiovascular.

Actualmente no se recomienda el uso de estatinas como prevención primaria de eventos

cardiovasculares en sujetos de bajo riesgo; sin embargo, se ha establecido que estos medicamentos disminuyen el volumen de placa coronaria no calcificada y pueden enlentecer la progresión del GIMC (280, 281), por lo que, en ausencia de datos clínicos concluyentes, es necesario estudiar el uso de estatinas en pacientes con infección por VIH con aterosclerosis subclínica, según las características ecográficas de la placa carotídea que indiquen signos de vulnerabilidad.

En la actualidad, las tasas de enfermedad cardiovascular en pacientes con infecciones por VIH están disminuyendo, probablemente como resultado de un mejor control de los factores de riesgo cardiovasculares, el uso de tratamiento antirretroviral con un mejor perfil lipídico y el inicio de TAR de una forma precoz asociado a mayores niveles de linfocitos T CD4 + (282). Sin embargo, por ahora, ningún tratamiento ha sido capaz de normalizar completamente los marcadores inflamatorios, por lo que el riesgo de enfermedad cardiovascular (y otras comorbilidades) probablemente seguirán aumentando en pacientes con infección por VIH. El nuevo papel de los inhibidores de la integrasa como fármacos de elección para los pacientes no tratados previamente en las guías recientes, podría ayudar, porque parecen tener un mejor perfil inflamatorio que los inhibidores de la transcriptasa inversa, no nucleósidos e inhibidores de la proteasa, aunque los datos actualmente no son del todo concluyentes (283, 284).

## **5. Limitaciones**

Una limitación del estudio es la ausencia de un grupo control sin infección por VIH, lo cual aportaría más datos sobre el efecto de la infección por VIH en el desarrollo de la aterosclerosis subclínica.

A pesar de cumplir con el tamaño muestral mínimo previsto, se puede considerar que otra limitación es el tamaño de la población estudiada, 84 participantes. Una muestra más amplia podría haber dado mayor precisión y consistencias a las asociaciones encontradas y probablemente demostrar otras que no se han podido comprobar.

La utilización de unos criterios de exclusión exhaustivos para intentar controlar al máximo los factores que puedan influir en el desarrollo de aterosclerosis (diabetes, toma de estatinas, alteración de la homeostasis de la glucosa y de la función renal, entre otros) repercuten en una pérdida de la validez externa del estudio, haciendo que las conclusiones no puedan ser extrapoladas a la mayoría de los pacientes con infección por VIH, que suelen

presentar una prevalencia importante de factores de riesgo vascular tradicionales, hepatitis crónica C, entre otros. Sin embargo, ésta a su vez, es una fortaleza del estudio, ya que, al incluir pacientes con escaso riesgo vascular, plantea el posible efecto inflamatorio (IL-6) asociado a la infección VIH crónica sobre el endotelio vascular en la génesis de la aterosclerosis en pacientes con infección por VIH, con buen control de la infección y clasificados como riesgo cardiovascular bajo. A pesar de ello para lograr con el tamaño muestral previsto incluimos fumadores, pero el porcentaje de fumadores actuales era muy bajo (12%) y eran fumadores leves (<5 cigarrillos / día). Por otro lado, los paquetes-año acumulados en pacientes con tabaquismo previo fueron relativamente bajos (8 paquetes-año). El tabaquismo fue algo más frecuente en pacientes con aterosclerosis subclínica, pero la asociación no fue significativa.

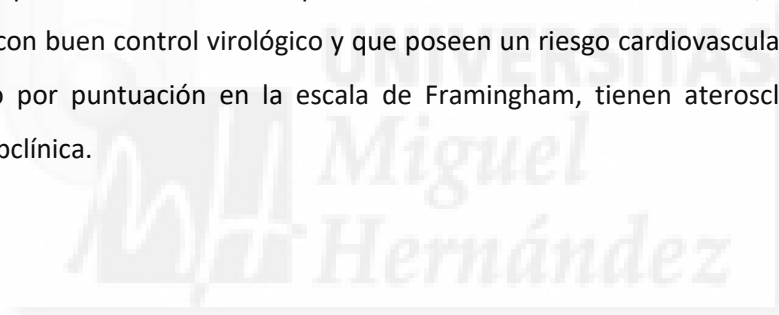
Otra limitación es la posible relación entre fármacos del grupo de los inhibidores de la proteasa y la aterosclerosis subclínica. Nuestro diseño no fue prospectivo y no hemos registrado la exposición acumulativa a los inhibidores de la proteasa. En otros estudios se ha estudiado esta relación con resultados discordantes, lo cual puede ser debido a que no todos los IP son iguales (de hecho, los nuevos IP no están claramente relacionados con el desarrollo de eventos cardiovasculares), esto hace que el debate sobre esta posible asociación persista en la actualidad (215).

Finalmente, no medimos otras variables que pudieran ser importantes como el uso de abacavir, antecedentes de viremias de bajo nivel, sCD163 (fuertemente asociado con inflamación arterial) (86) o citocinas protectoras como interleucina 10, adiponectina o interleucina-27 (267).



## **Conclusiones**

- Los dos principales factores de riesgo que se asocian con la presencia de aterosclerosis subclínica son la edad y la inflamación representada por el biomarcador IL-6.
- La inflamación está intensamente asociada con la aterosclerosis subclínica en ausencia de factores de riesgo cardiovascular clásicos, por lo que los pacientes con niveles de IL-6 > 6,6 pg /ml tienen un riesgo nueve veces mayor cuando se comparan con los pacientes con niveles de biomarcador IL 6 más bajos.
- La prevalencia de traslocación bacteriana definida como detección de DNA bacteriano (DNAr) positivo fue de 41%.
- Los pacientes con aterosclerosis subclínica presentan de forma significativa mayor proporción de traslocación bacteriana determinada mediante DNA bacteriano. Sin embargo, esta asociación desapareció en el análisis multivariante.
- El 21% de los pacientes con infección por VIH en tratamiento antirretroviral, que se encuentran con buen control virológico y que poseen un riesgo cardiovascular bajo determinado por puntuación en la escala de Framingham, tienen aterosclerosis carotídea subclínica.





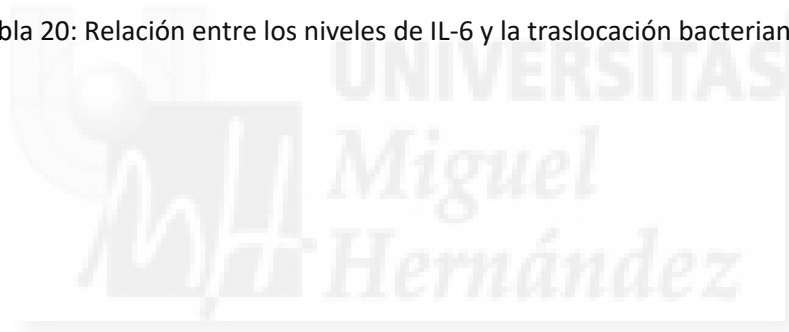
## **Índice de tablas y figuras**

## 1. Índice de tablas

Tabla 1. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables sociodemográficas .....	64
Tabla 2. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables relacionadas con la infección por VIH y el TAR .....	66
Tabla 3. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de exploración física .....	68
Tabla 4. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de comorbilidades asociadas .....	69
Tabla 5. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de traslocación bacteriana y de inflamación .....	71
Tabla 6. Datos descriptivos de los pacientes incluidos en el estudio: variables de resultado (GIMC y presencia de placa carotídea).....	72
Tabla 7. Cuantificación de la asociación entre grosor de íntima media carotídea y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado .....	73
Tabla 8. Cuantificación de la asociación entre las variables sociodemográficas y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado .....	74
Tabla 9. Cuantificación de la asociación entre las variables de factores de riesgo cardiovascular y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado .....	75
Tabla 10. Cuantificación de la asociación entre las variables asociadas con la infección VIH y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado .....	77
Tabla 11. Cuantificación de la asociación entre las variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y la presencia de placa carotídea. Análisis univariado .....	78
Tabla 12. Magnitud de la asociación de los factores de riesgo con la presencia de placa carotídea. Análisis multivariante.....	80
Tabla 12.1. Magnitud de la asociación de los factores de riesgo con la presencia de placa carotídea. Análisis multivariante (incluyendo biomarcadores) .....	82
Tabla 12.2. Magnitud de la asociación de los factores de riesgo con la presencia de placa carotídea. Análisis multivariante (incluyendo la escala Framingham).....	82
Tabla 13. Cuantificación de la asociación entre las variables sociodemográficas y el GIMC.	



Análisis univariado.....	83
Tabla 14: Cuantificación de la asociación entre las variables de factores de riesgo cardiovascular y el GIMC. Análisis univariado .....	85
Tabla 15: Cuantificación de la asociación entre las variables asociadas con la infección VIH y el GIMC. Análisis univariado .....	87
Tabla 16: Cuantificación de la asociación entre las variables de marcadores de traslocación bacteriana e inflamación y el GIMC. Análisis univariado.....	89
Tabla17: Magnitud de la asociación de los factores de riesgo y el GIMC. Análisis multivariante .....	90
Tabla 18: Cuantificación de la asociación entre las características basales de los pacientes y el marcador de traslocación bacteriano DNAr .....	92
Tabla 19: Cuantificación de las asociación entre las características basales de los pacientes y el marcador de inflamación IL-6 .....	93
Tabla 20: Relación entre los niveles de IL-6 y la traslocación bacteriana (DNAr).....	94



## 2. Índice de figuras

Figura 1: Distribución por modo de transmisión de los nuevos diagnósticos de VIH (España, 2017) .....	19
Figura 2: Tasas de nuevos diagnósticos de VIH anuales según modo de transmisión (España, 2009-2017) .....	19
Figura 3: Casos de sida en España por sexo, 1981-2017 .....	20
Figura 4: Causas y consecuencias de la inflamación asociada al VIH .....	26
Figura 5: Resumen esquemático de los efectos de la infección por VIH y su tratamiento sobre las células endoteliales vasculares .....	29
Figura 6: Microbiota intestinal, traslocación bacteriana y enfermedad cardiovascular .....	32
Figura 7: Árbol carotídeo .....	39
Figura 8. Distribución según la edad de los pacientes incluidos en el estudio .....	65
Figura 9. Distribución según el sexo de los pacientes incluidos en el estudio .....	65
Figura 10. Tratamiento antirretroviral que recibían los pacientes incluidos en el estudio. ....	67
Figura 11. Cifras de tensión arterial de los pacientes incluidos en el estudio .....	68
Figura 12. Prevalencia de hipovitaminosis D en la población estudiada .....	70
Figura 13. Prevalencia de tabaquismo en la población estudiada .....	71
Figura 14. Prevalencia de traslocación bacteriana (biomarcador DNAr) en la población estudiada .....	72
Figura 15. Prevalencia de placa carotídea en la población estudiada.....	72
Figura 16. Relación entre el GIMC y la presencia de placa carotídea en la población estudiada .....	73
Figura 17. Relación entre la edad y la presencia de placa carotídea en la población estudiada .....	74
Figura 18. Relación entre el índice cintura – cadera y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.....	76
Figura 19. Relación entre los años desde el diagnóstico de la infección por VIH y la presencia de placa carotídea en la población estudiada .....	77
Figura 20. Relación entre la traslocación bacteriana (biomarcador DNAr) y la presencia de placa carotídea en la población estudiada.....	78

Figura 21. Relación entre los niveles de IL 6 y la presencia de placa carotídea en la población estudiada .....	78
Figura 22. Relación entre la edad y el GIMC en la población estudiada.....	84
Figura 23. Relación entre el sexo y el GIMC en la población estudiada .....	84
Figura 24. Relación entre la tensión arterial y el GIMC en la población estudiada .....	86
Figura 25. Relación entre los años desde el diagnóstico de la infección por VIH y el GIMC en la población estudiada.....	88
Figura 26. Relación entre los niveles de IL 6 y la presencia de traslocación bacteriana en la población estudiada .....	94





## **Bibliografía**

1. Centers for Disease Control. Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1981;30:250-2.
2. Hymes KB, Cheung T, Greene JB, Prose NS, Marcus A, Ballard H, et al. Kaposi's sarcoma in homosexual men-a report of eight cases. Lancet. 1981 Sep 19;2(8247):598-600. doi: 10.1016/s0140-6736(81)92740-9.
3. Greene WC. A history of AIDS: looking back to see ahead. Eur J Immunol. 2007 Nov;37 Suppl 1:S94-102. doi: 10.1002/eji.200737441. Erratum in: Eur J Immunol. 2008 Jan;38(1):309.
4. UNAIDS. UNAIDS Data 2017.  
[http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/20170720\\_Data\\_book\\_2017\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20170720_Data_book_2017_en.pdf)
5. UNAIDS. Ending AIDS: Progress Towards the 90-90-90 Targets. Global AIDS Update, 2017.  
[http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/Global\\_AIDS\\_update\\_2017\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/Global_AIDS_update_2017_en.pdf)
6. UNAIDS. HIV Prevention 2020 Road Map: Accelerating HIV prevention to reduce new infections by 75%. [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/hiv-prevention-2020-road-map\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/hiv-prevention-2020-road-map_en.pdf)
7. GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet. 2017 Sep 16;390(10100):1151-1210. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32152-9. Erratum in: Lancet. 2017 Oct 28;390(10106):e38.
8. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2019. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2019. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/hiv-surveillance-report-2019.pdf>.
9. Área de Vigilancia de VIH y Comportamientos de Riesgo. Vigilancia Epidemiológica del VIH y sida en España 2017: Sistema de Información sobre Nuevos Diagnósticos de VIH y Registro Nacional de Casos de Sida. Plan Nacional sobre el Sida - D.G. de Salud Pública, Calidad e Innovación / Centro Nacional de Epidemiología - ISCIII. Madrid; Nov 2018.
10. Samji H, Cescon A, Hogg RS, Modur SP, Althoff KN, Buchacz K, et al. North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design (NA-ACCORD) of IeDEA. Closing the gap: increases in life expectancy among treated HIV-positive individuals in the United States and

Canada. PLoS One. 2013 Dec 18;8(12):e81355. doi: 10.1371/journal.pone.0081355.

11. Lohse N, Obel N. Update of Survival for Persons With HIV Infection in Denmark. *Ann Intern Med*. 2016 Nov 15;165(10):749-750. doi: 10.7326/L16-0091.

12. Giorgi JV, Hultin LE, McKeating JA, Johnson TD, Owens B, Jacobson LP, et al. Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage. *J Infect Dis*. 1999 Apr;179(4):859-70. doi: 10.1086/314660.

13. Kitahata MM, Gange SJ, Abraham AG, Merriman B, Saag MS, Justice AC, et al. NA-ACCORD Investigators. Effect of early versus deferred antiretroviral therapy for HIV on survival. *N Engl J Med*. 2009 Apr 30;360(18):1815-26. doi: 10.1056/NEJMoa0807252.

14. May M, Sterne JA, Sabin C, Costagliola D, Justice AC, Thiébaud R, et al. Antiretroviral Therapy (ART) Cohort Collaboration. Prognosis of HIV-1-infected patients up to 5 years after initiation of HAART: collaborative analysis of prospective studies. *AIDS*. 2007 May 31;21(9):1185-97. doi: 10.1097/QAD.0b013e328133f285.

15. HIV-CAUSAL Collaboration, Cain LE, Logan R, Robins JM, Sterne JA, Sabin C, et al. When to initiate combined antiretroviral therapy to reduce mortality and AIDS-defining illness in HIV-infected persons in developed countries: an observational study. *Ann Intern Med*. 2011 Apr 19;154(8):509-15. doi: 10.7326/0003-4819-154-8-201104190-00001.

16. Severe P, Juste MA, Ambroise A, Eliacin L, Marchand C, Apollon S, et al. Early versus standard antiretroviral therapy for HIV-infected adults in Haiti. *N Engl J Med*. 2010 Jul 15;363(3):257-65. doi: 10.1056/NEJMoa0910370.

17. Zolopa A, Andersen J, Powderly W, Sanchez A, Sanne I, Suckow C, et al. Early antiretroviral therapy reduces AIDS progression/death in individuals with acute opportunistic infections: a multicenter randomized strategy trial. *PLoS One*. 2009;4(5):e5575. doi: 10.1371/journal.pone.0005575.

18. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, Emery S, Neuhaus JA, Phillips AN, Babiker A, Cohen CJ, Gatell JM, et al. Major clinical outcomes in antiretroviral therapy (ART)-naive participants and in those not receiving ART at baseline in the SMART study. *J Infect Dis*. 2008 Apr 15;197(8):1133-44. doi: 10.1086/586713.

19. Jaén A, Esteve A, Miró JM, Tural C, Montoliu A, Ferrer E, et al. PISCIS Study Group. Determinants of HIV progression and assessment of the optimal time to initiate highly

active antiretroviral therapy: PISCIS Cohort (Spain). *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008 Feb 1;47(2):212-20. doi: 10.1097/qai.0b013e31815ee282.

20. Phillips AN, Gazzard B, Gilson R, Easterbrook P, Johnson M, Walsh J, et al. UK Collaborative HIV Cohort Study. Rate of AIDS diseases or death in HIV-infected antiretroviral therapy-naive individuals with high CD4 cell count. *AIDS*. 2007 Aug 20;21(13):1717-21. doi: 10.1097/QAD.0b013e32827038bf.

21. Grinsztejn B, Hosseinipour MC, Ribaud HJ, Swindells S, Eron J, Chen YQ, et al. HPTN 052-ACTG Study Team. Effects of early versus delayed initiation of antiretroviral treatment on clinical outcomes of HIV-1 infection: results from the phase 3 HPTN 052 randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2014 Apr;14(4):281-90. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70692-3. Epub 2014 Mar 4. Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2014 Apr;14(4):269.

22. When To Start Consortium, Sterne JA, May M, Costagliola D, de Wolf F, Phillips AN, Harris R, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *Lancet*. 2009 Apr 18;373(9672):1352-63. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60612-7. Epub 2009 Apr 8.

23. Cameron DW, Heath-Chiozzi M, Danner S, Cohen C, Kravcik S, Maurath C, et al. Randomised placebo-controlled trial of ritonavir in advanced HIV-1 disease. The Advanced HIV Disease Ritonavir Study Group. *Lancet*. 1998 Feb 21;351(9102):543-9. doi: 10.1016/s0140-6736(97)04161-5.

24. Rodríguez B, Sethi AK, Cheruvu VK, Mackay W, Bosch RJ, Kitahata M, et al. Predictive value of plasma HIV RNA level on rate of CD4 T-cell decline in untreated HIV infection. *JAMA*. 2006 Sep 27;296(12):1498-506. doi: 10.1001/jama.296.12.1498.

25. Study Group on Death Rates at High CD4 Count in Antiretroviral Naive Patients, Lodwick RK, Sabin CA, Porter K, Ledergerber B, van Sighem A, Cozzi-Lepri A, et al. Death rates in HIV-positive antiretroviral-naive patients with CD4 count greater than 350 cells per microL in Europe and North America: a pooled cohort observational study. *Lancet*. 2010 Jul 31;376(9738):340-5. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60932-4.

26. INSIGHT START Study Group, Lundgren JD, Babiker AG, Gordin F, Emery S, Grund B, Sharma S, Avihingsanon A, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med*. 2015 Aug 27;373(9):795-807. doi: 10.1056/NEJMoa1506816.

27. TEMPRANO ANRS 12136 Study Group, Danel C, Moh R, Gabillard D, Badje A, Le Carrou J,

et al. A Trial of Early Antiretrovirals and Isoniazid Preventive Therapy in Africa. *N Engl J Med*. 2015 Aug 27;373(9):808-22. doi: 10.1056/NEJMoa1507198.

28. Neuhaus J, Angus B, Kowalska JD, La Rosa A, Sampson J, Wentworth D, et al; INSIGHT SMART and ESPRIT study groups. Risk of all-cause mortality associated with nonfatal AIDS and serious non-AIDS events among adults infected with HIV. *AIDS*. 2010 Mar 13;24(5):697-706. doi: 10.1097/QAD.0b013e3283365356.

29. Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Causes of death in HIV-1-infected patients treated with antiretroviral therapy, 1996-2006: collaborative analysis of 13 HIV cohort studies. *Clin Infect Dis*. 2010 May 15;50(10):1387-96. doi: 10.1086/652283.

30. Mocroft A, Reiss P, Gasiorowski J, Ledergerber B, Kowalska J, Chiesi A, et al; EuroSIDA Study Group. Serious fatal and nonfatal non-AIDS-defining illnesses in Europe. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010 Oct;55(2):262-70. doi: 10.1097/QAI.0b013e3181e9be6b.

31. Ballocca F, D'Ascenzo F, Gili S, Grosso Marra W, Gaita F. Cardiovascular disease in patients with HIV. *Trends Cardiovasc Med*. 2017 Nov;27(8):558-563. doi: 10.1016/j.tcm.2017.06.005.

32. Currier JS, Lundgren JD, Carr A, Klein D, Sabin CA, Sax PE et al. Epidemiological evidence for cardiovascular disease in HIV-infected patients and relationship to highly active antiretroviral therapy. *Circulation*. 2008; 118(2):e29-e35.

33. Feinstein MJ, Bahiru E, Achenbach C, Longenecker CT, Hsue P, So-Armah K, et al. Patterns of Cardiovascular Mortality for HIV-Infected Adults in the United States: 1999 to 2013. *Am J Cardiol*. 2016 Jan 15;117(2):214-20. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.10.030.

34. Hanna DB, Ramaswamy C, Kaplan RC, Kizer JR, Anastos K, Daskalakis D, et al. Trends in Cardiovascular Disease Mortality Among Persons With HIV in New York City, 2001-2012. *Clin Infect Dis*. 2016 Oct 15;63(8):1122-1129. doi: 10.1093/cid/ciw470. Epub 2016 Jul 20. Erratum in: *Clin Infect Dis*. 2018 Mar 5;66(6):985.

35. Cerrato E, Calcagno A, D'Ascenzo F, Biondi-Zoccai G, Mancone M, Grosso Marra W, et al. Cardiovascular disease in HIV patients: from bench to bedside and backwards. *Open Heart*. 2015;2:e000174. doi: 10.1136/openhrt-2014-000174

36. Womack JA, Chang CC, So-Armah KA, Alcorn C, Baker JV, Brown ST, et al. HIV infection and cardiovascular disease in women. *J Am Heart Assoc*. 2014 Oct 16;3(5):e001035. doi: 10.1161/JAHA.114.001035.



37. Freiberg MS, Chang CC, Kuller LH, Skanderson M, Lowy E, Kraemer KL, et al. HIV infection and the risk of acute myocardial infarction. *JAMA Intern Med.* 2013 Apr 22;173(8):614-22. doi: 10.1001/jamainternmed.2013.3728.
38. Sico JJ, Chang CC, So-Armah K, Justice AC, Hylek E, Skanderson M, et al; Veterans Aging Cohort Study. HIV status and the risk of ischemic stroke among men. *Neurology.* 2015 May 12;84(19):1933-40. doi: 10.1212/WNL.0000000000001560.
39. Durand M, Sheehy O, Baril JG, Leloir J, Tremblay CL. Association between HIV infection, antiretroviral therapy, and risk of acute myocardial infarction: a cohort and nested case-control study using Québec's public health insurance database. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011 Jul 1;57(3):245-53. doi: 10.1097/QAI.0b013e31821d33a5.
40. Shah ASV, Stelzle D, Lee KK, Beck EJ, Alam S, Clifford S, et al. Global Burden of Atherosclerotic Cardiovascular Disease in People Living With HIV: Systematic Review and Meta-Analysis. *Circulation.* 2018 Sep 11;138(11):1100-1112. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.033369.
41. Smith SC, Greenland P, Grundy SM. Prevention Conference: identifying the high-risk patient for primary prevention. Executive Summary. *Circulation* 2000; 101: 111-6.
42. Villar F, Banegas JR, Donado JM, Rodríguez F. Las enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo en España: hechos y cifras. Informe SEA 2007. Madrid: Sociedad Española de Arteriosclerosis (SEA), 2007.
43. Triant VA, Lee H, Hadigan C, Grinspoon SK. Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(7):2506–12.
44. Guaraldi G, Orlando G, Zona S, Menozzi M, Carli F, Garlassi E, et al. Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis.* 2011 Dec;53(11):1120-6. doi: 10.1093/cid/cir627.
45. Worm SW, De Wit S, Weber R, Sabin CA, Reiss P, El-Sadr W, et al. Diabetes mellitus, pre-existing coronary heart disease, and the risk of subsequent coronary heart disease events in patients infected with human immunodeficiency virus: the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D Study). *Circulation.* 2009 Feb 17;119(6):805-11.
46. Lundgren JD, Battegay M, Behrens G, De Wit S, Guaraldi G, Katlama C, et al. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines on the prevention and management of metabolic

diseases in HIV. *HIV Med.* 2008; 9(2):72-81.

47. Grupo de expertos del Grupo de estudio sobre Alteraciones Metabólicas (GEAM), de la Secretaría del Plan Nacional sobre el sida (SPNS) y del Grupo de Estudio de sida (GeSIDA). Documento de consenso sobre alteraciones metabólicas y riesgo cardiovascular en pacientes con infección por el VIH (Febrero 2017). [https://grupogeam.es/wp-content/uploads/2017/02/RecomendacionesMetabolicasGEAM\\_PNS\\_GESIDA1Febrero2017\\_FinalT.pdf](https://grupogeam.es/wp-content/uploads/2017/02/RecomendacionesMetabolicasGEAM_PNS_GESIDA1Febrero2017_FinalT.pdf)

48. Kaplan RC, Kingsley LA, Sharrett AR, Li X, Lazar J, Tien PC, et al. Ten-year predicted coronary heart disease risk in HIV-infected men and women. *Clin Infect Dis.* 2007 Oct 15;45(8):1074-81. doi: 10.1086/521935.

49. Smith CJ, Levy I, Sabin CA, Kaya E, Johnson MA, Lipman MC. Cardiovascular disease risk factors and antiretroviral therapy in an HIV-positive UK population. *HIV Med.* 2004 Mar;5(2):88-92. doi: 10.1111/j.1468-1293.2004.00191.x. Erratum in: *HIV Med.* 2004 Jul;5(4):314.

50. Masiá M, Pérez-Cachafeiro S, Leyes M, López-Aldeguer J, López M, Segura F, et al; Grupo de estudio de riesgo cardiovascular de CoRIS. Riesgo cardiovascular en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en España. Cohorte CoRIS, 2011 [Cardiovascular risk in human immunodeficiency virus-infected patients in Spain. CoRIS cohort, 2011]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012 Nov;30(9):517-27. Spanish. doi: 10.1016/j.eimc.2012.02.014.

51. Boccara F, Mary-Krause M, Teiger E, Lang S, Lim P, Wahbi K, et al; Prognosis of Acute Coronary Syndrome in HIV-infected patients (PACS) Investigators. Acute coronary syndrome in human immunodeficiency virus-infected patients: characteristics and 1 year prognosis. *Eur Heart J.* 2011 Jan;32(1):41-50. doi: 10.1093/eurheartj/ehq372.

52. Helleberg M, Afzal S, Kronborg G, Larsen CS, Pedersen G, Pedersen C, et al. Mortality attributable to smoking among HIV-1-infected individuals: a nationwide, population-based cohort study. *Clin Infect Dis.* 2013 Mar;56(5):727-34. doi: 10.1093/cid/cis933.

53. Reddy KP, Parker RA, Losina E, Baggett TP, Paltiel AD, Rigotti NA, et al. Impact of Cigarette Smoking and Smoking Cessation on Life Expectancy Among People With HIV: A US-Based Modeling Study. *J Infect Dis.* 2016 Dec 1;214(11):1672-1681. doi: 10.1093/infdis/jiw430.

54. Rasmussen LD, Helleberg M, May MT, Afzal S, Kronborg G, Larsen CS, et al. Myocardial infarction among Danish HIV-infected individuals: population-attributable fractions associated with smoking. *Clin Infect Dis*. 2015 May 1;60(9):1415-23. doi: 10.1093/cid/civ013.
55. Petoumenos K, Worm S, Reiss P, de Wit S, d'Arminio Monforte A, Sabin C, et al; D:A:D Study Group. Rates of cardiovascular disease following smoking cessation in patients with HIV infection: results from the D:A:D study. *HIV Med*. 2011 Aug;12(7):412-21. doi: 10.1111/j.1468-1293.2010.00901.x.
56. Shor-Posner G, Basit A, Lu Y, Cabrejos C, Chang J, Fletcher M, et al. Hypocholesterolemia is associated with immune dysfunction in early human immunodeficiency virus-1 infection. *Am J Med*. 1993 May;94(5):515-519. doi: 10.1016/0002-9343(93)90087-6.
57. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992 May;74(5):1045-52. doi: 10.1210/jcem.74.5.1373735.
58. Worm SW, Sabin C, Weber R, Reiss P, El-Sadr W, Dabis F, et al. Risk of myocardial infarction in patients with HIV infection exposed to specific individual antiretroviral drugs from the 3 major drug classes: the data collection on adverse events of anti-HIV drugs (D:A:D) study. *J Infect Dis*. 2010 Feb 1;201(3):318-30. doi: 10.1086/649897.
59. Mujawar Z, Rose H, Morrow MP, Pushkarsky T, Dubrovsky L, Mukhamedova N, et al. Human immunodeficiency virus impairs reverse cholesterol transport from macrophages. *PLoS Biol*. 2006 Oct;4(11):e365. doi: 10.1371/journal.pbio.0040365.
60. Brown TT, Cole SR, Li X, Kingsley LA, Palella FJ, Riddler SA, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med*. 2005 May 23;165(10):1179-84. doi: 10.1001/archinte.165.10.1179. Erratum in: *Arch Intern Med*. 2005 Nov 28;165(21):2541.
61. Rudich A, Ben-Romano R, Etzion S, Bashan N. Cellular mechanisms of insulin resistance, lipodystrophy and atherosclerosis induced by HIV protease inhibitors. *Acta Physiol Scand* 2005; 183:75.
62. De Wit S, Sabin CA, Weber R, Worm SW, Reiss P, Cazavanave C, et al; Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. Incidence and risk factors for new-onset

diabetes in HIV-infected patients: the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. *Diabetes Care*. 2008 Jun;31(6):1224-9. doi: 10.2337/dc07-2013.

63. Wand H, Calmy A, Carey DL, Samaras K, Carr A, Law MG, et al; INITIO Trial International Coordinating Committee. Metabolic syndrome, cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus after initiation of antiretroviral therapy in HIV infection. *AIDS*. 2007 Nov 30;21(18):2445-53. doi: 10.1097/QAD.0b013e3282efad32.

64. Ledergerber B, Furrer H, Rickenbach M, Lehmann R, Elzi L, Hirschel B, et al; Swiss HIV Cohort Study. Factors associated with the incidence of type 2 diabetes mellitus in HIV-infected participants in the Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2007 Jul 1;45(1):111-9. doi: 10.1086/518619.

65. Lorenz MW, Stephan C, Harmjanz A, Staszewski S, Buehler A, Bickel M, et al. Both long-term HIV infection and highly active antiretroviral therapy are independent risk factors for early carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2008 Feb;196(2):720-6. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2006.12.022.

66. Kingsley LA, Cuervo-Rojas J, Muñoz A, Palella FJ, Post W, Witt MD, et al. Subclinical coronary atherosclerosis, HIV infection and antiretroviral therapy: Multicenter AIDS Cohort Study. *AIDS*. 2008 Aug 20;22(13):1589-99. doi: 10.1097/QAD.0b013e328306a6c5.

67. Friis-Møller N, Sabin CA, Weber R, d'Arminio Monforte A, El-Sadr WM, Reiss P, et al; Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2003 Nov 20;349(21):1993-2003. doi: 10.1056/NEJMoa030218. Erratum in: *N Engl J Med*. 2004 Feb 26;350(9):955.

68. Lang S, Mary-Krause M, Cotte L, Gilquin J, Partisani M, Simon A, et al; Clinical Epidemiology Group of the French Hospital Database on HIV. Impact of individual antiretroviral drugs on the risk of myocardial infarction in human immunodeficiency virus-infected patients: a case-control study nested within the French Hospital Database on HIV ANRS cohort CO4. *Arch Intern Med*. 2010 Jul 26;170(14):1228-38. doi: 10.1001/archinternmed.2010.197.

69. Holmberg SD, Moorman AC, Williamson JM, Tong TC, Ward DJ, Wood KC, et al; HIV Outpatient Study (HOPS) investigators. Protease inhibitors and cardiovascular outcomes in patients with HIV-1. *Lancet*. 2002 Nov 30;360(9347):1747-8. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11672-2.

70. D:A:D Study Group, Sabin CA, Worm SW, Weber R, Reiss P, El-Sadr W, Dabis F, et al. Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients enrolled in the D:A:D study: a multi-cohort collaboration. *Lancet*. 2008 Apr 26;371(9622):1417-26. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60423-7. Epub 2008 Apr 2. Erratum in: *Lancet*. 2008 Jul 26;372(9635):292.
71. DAD Study Group, Friis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte Ad, et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2007 Apr 26;356(17):1723-35. doi: 10.1056/NEJMoa062744.
72. Schillaci G, De Socio GV, Pirro M, Savarese G, Mannarino MR, Baldelli F, et al. Impact of treatment with protease inhibitors on aortic stiffness in adult patients with human immunodeficiency virus infection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Nov;25(11):2381-5. doi: 10.1161/01.ATV.0000183744.38509.de.
73. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, El-Sadr WM, Lundgren J, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, Arduino RC, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med*. 2006 Nov 30;355(22):2283-96. doi: 10.1056/NEJMoa062360.
74. Fisher SD, Miller TL, Lipshultz SE. Impact of HIV and highly active anti-retroviral therapy on leukocyte adhesion molecules, arterial inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2006; 185: 1-11.
75. Rose H, Hoy J, Woolley I, Tchoua U, Bukrinsky M, Dart A, et al. HIV infection and high density lipoprotein metabolism. *Atherosclerosis*. 2008 Jul;199(1):79-86. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.10.018.
76. Oh J, Hegele RA. HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7: 787-796.
77. Lazzaretti RK, Kuhmmer R, Sprinz E, Polanczyk CA, Ribeiro JP. Dietary intervention prevents dyslipidemia associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals: a randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Mar 13;59(11):979-88. doi: 10.1016/j.jacc.2011.11.038.
78. Henry K, Melroe H, Huebsch J, Hermundson J, Levine C, Swensen L, et al. Severe premature coronary artery disease with protease inhibitors. *Lancet*. 1998 May 2;351(9112):1328. doi: 10.1016/S0140-6736(05)79053-X.

79. Lefèvre C, Auclair M, Boccara F, Bastard JP, Capeau J, Vigouroux C, et al. Premature senescence of vascular cells is induced by HIV protease inhibitors: implication of prelamin A and reversion by statin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 Dec;30(12):2611-20. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.213603.
80. Lima VD, Hogg RS, Harrigan PR, Moore D, Yip B, Wood E, et al. Continued improvement in survival among HIV-infected individuals with newer forms of highly active antiretroviral therapy. *AIDS.* 2007 Mar 30;21(6):685-92. doi: 10.1097/QAD.0b013e32802ef30c.
81. Althoff KN, Gebo KA, Moore RD, Boyd CM, Justice AC, Wong C, et al; North American AIDS Cohort Collaboration on Research and Design. Contributions of traditional and HIV-related risk factors on non-AIDS-defining cancer, myocardial infarction, and end-stage liver and renal diseases in adults with HIV in the USA and Canada: a collaboration of cohort studies. *Lancet HIV.* 2019 Feb;6(2):e93-e104. doi: 10.1016/S2352-3018(18)30295-9. Epub 2019 Jan 22. Erratum in: *Lancet HIV.* 2019 Apr 2;:
82. Johnson M, Grinsztejn B, Rodríguez C, Coco J, DeJesús E, Lazzarin A, et al. Atazanavir plus ritonavir or saquinavir, and lopinavir/ritonavir in patients experiencing multiple virological failures. *AIDS,* 19 (2005), pp. 685-94
83. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005 Apr 21;352(16):1685-95.
84. Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med.* 2004 Dec 16;351(25):2599-610. doi: 10.1056/NEJMoa040967.
85. Hsue PY, Deeks SG, Hunt PW. Immunologic basis of cardiovascular disease in HIV-infected adults. *J Infect Dis.* 2012 Jun;205 Suppl 3(Suppl 3):S375-82. doi: 10.1093/infdis/jis200.
86. Subramanian S, Tawakol A, Burdo TH, Abbara S, Wei J, Vijayakumar J, et al. Arterial inflammation in patients with HIV. *JAMA.* 2012 Jul 25;308(4):379-86. doi: 10.1001/jama.2012.6698.
87. Reingold J, Wanke C, Kotler D, Lewis C, Tracy R, Heymsfield S, et al. Association of HIV infection and HIV/HCV coinfection with C-reactive protein levels: the fat redistribution and metabolic change in HIV infection (FRAM) study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008 Jun 1;48(2):142-8. doi: 10.1097/QAI.0b013e3181685727.

88. Tien PC, Choi AI, Zolopa AR, Benson C, Tracy R, Scherzer R, et al. Inflammation and mortality in HIV-infected adults: analysis of the FRAM study cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010 Nov;55(3):316-22. doi: 10.1097/QAI.0b013e3181e66216.
89. Triant VA, Meigs JB, Grinspoon SK. Association of C-reactive protein and HIV infection with acute myocardial infarction. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51:268.
90. Vesterbacka J, Nowak P, Barqasho B, Abdurahman S, Nyström J, Nilsson S, et al. Kinetics of microbial translocation markers in patients on efavirenz or lopinavir/r based antiretroviral therapy. *PLoS One*. 2013;8(1):e55038. doi: 10.1371/journal.pone.0055038.
91. Arildsen H, Sørensen KE, Ingerslev JM, Østergaard LJ, Laursen AL. Endothelial dysfunction, increased inflammation, and activated coagulation in HIV-infected patients improve after initiation of highly active antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2013 Jan;14(1):1-9. doi: 10.1111/j.1468-1293.2012.01027.x.
92. Bastard JP, Fellahi S, Couffignal C, Raffi F, Gras G, Hardel L, et al; ANRS CO8 APROCO-COPILOTE Cohort Study Group. Increased systemic immune activation and inflammatory profile of long-term HIV-infected ART-controlled patients is related to personal factors, but not to markers of HIV infection severity. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(6):1816-24. doi: 10.1093/jac/dkv036.
93. Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE, et al; INSIGHT SMART Study Group. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *J Infect Dis*. 2011 Mar 15;203(6):780-90. doi: 10.1093/infdis/jiq118.
94. Duprez DA, Neuhaus J, Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, et al; INSIGHT SMART Study Group. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals. *PLoS One*. 2012;7(9):e44454. doi: 10.1371/journal.pone.0044454.
95. Baker J, Quick H, Hullsiek KH, Tracy R, Duprez D, Henry K, et al. Interleukin-6 and d-dimer levels are associated with vascular dysfunction in patients with untreated HIV infection. *HIV Med*. 2010 Oct 1;11(9):608-9. doi: 10.1111/j.1468-1293.2010.00835.x.
96. Borges ÁH, O'Connor JL, Phillips AN, Neaton JD, Grund B, Neuhaus J, et al; INSIGHT SMART Study and ESPRIT Groups. Interleukin 6 Is a Stronger Predictor of Clinical Events Than High-Sensitivity C-Reactive Protein or D-Dimer During HIV Infection. *J Infect Dis*. 2016 Aug 1;214(3):408-16. doi: 10.1093/infdis/jiw173.
97. Marincowitz C, Genis A, Goswami N, De Boever P, Nawrot TS, Strijdom H. Vascular

endothelial dysfunction in the wake of HIV and ART. FEBS J. 2019 Apr;286(7):1256-1270.

98. Cotter BR. Endothelial dysfunction in HIV infection. Curr HIV/AIDS Rep 2006;3(3):126-31.

99. Barbaro G. HIV infection, highly active antiretroviral therapy and the cardiovascular system. Cardiovasc Res 2003;60(1):87-95.

100. Maggi P, Maserati R, Antonelli G. Atherosclerosis in HIV patients: a new face for an old disease?. AIDS Rev 2006;8(4):204-9.

101. Cerrato E, Calcagno A, D'Ascenzo F, Biondi-Zoccai G, Mancone M, Grosso Marra W, et al. Cardiovascular disease in HIV patients: from bench to bedside and backwards. Open Heart.2015;2:e000174. doi: 10.1136/openhrt-2014-000174

102. Hemkens LG, Bucher HC. HIV infection and cardiovascular disease. Eur Heart J. 2014 Jun 1;35(21):1373-81.

103. Baker JV, Neuhaus J, Duprez D, Freiberg M, Bernardino JI, Badley AD, et al; INSIGHT SMART Study Group. HIV replication, inflammation, and the effect of starting antiretroviral therapy on plasma asymmetric dimethylarginine, a novel marker of endothelial dysfunction. J Acquir Immune Defic Syndr. 2012 Jun 1;60(2):128-34.

104. Lichtner M, Cicconi P, Vita S, Cozzi-Lepri A, Galli M, Lo Caputo S, et al; ICONA Foundation Study. Cytomegalovirus coinfection is associated with an increased risk of severe non-AIDS-defining events in a large cohort of HIV-infected patients. J Infect Dis. 2015 Jan 15;211(2):178-86. doi: 10.1093/infdis/jiu417.

105. Hsue PY, Hunt PW, Sinclair E, Brecht B, Franklin A, Killian M, et al. Increased carotid intima-media thickness in HIV patients is associated with increased cytomegalovirus-specific T-cell responses. AIDS. 2006 Nov 28;20(18):2275-83. doi: 10.1097/QAD.0b013e3280108704.

106. Parrinello CM, Sinclair E, Landay AL, Lurain N, Sharrett AR, Gange SJ, et al. Cytomegalovirus immunoglobulin G antibody is associated with subclinical carotid artery disease among HIV-infected women. J Infect Dis. 2012 Jun 15;205(12):1788-96. doi: 10.1093/infdis/jis276.

107. Valantine HA, Gao SZ, Menon SG, Renlund DG, Hunt SA, Oyer P, et al. Impact of prophylactic immediate posttransplant ganciclovir on development of transplant



atherosclerosis: a post hoc analysis of a randomized, placebo-controlled study. *Circulation*. 1999 Jul 6;100(1):61-6. doi: 10.1161/01.cir.100.1.61.

108. Hechter RC, Budoff M, Hodis HN, Rinaldo CR, Jenkins FJ, Jacobson LP, et al. Herpes simplex virus type 2 (HSV-2) as a coronary atherosclerosis risk factor in HIV-infected men: multicenter AIDS cohort study. *Atherosclerosis*. 2012 Aug;223(2):433-6. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.03.002.

109. de Castro IF, Micheloud D, Berenguer J, Guzmán-Fulgencio M, Catalán P, Miralles P, et al. Hepatitis C virus infection is associated with endothelial dysfunction in HIV/hepatitis C virus coinfecting patients. *AIDS*. 2010 Aug 24;24(13):2059-67. doi: 10.1097/QAD.0b013e32833ce54d.

110. Freiberg MS, Chang CC, Skanderson M, McGinnis K, Kuller LH, Kraemer KL, et al; Veterans Aging Cohort Study. The risk of incident coronary heart disease among veterans with and without HIV and hepatitis C. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2011 Jul;4(4):425-32. doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.110.957415.

111. Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) Study Group, Weber R, Sabin C, Reiss P, de Wit S, Worm SW, Law M, et al. HBV or HCV coinfections and risk of myocardial infarction in HIV-infected individuals: the D:A:D Cohort Study. *Antivir Ther*. 2010;15(8):1077-86. doi: 10.3851/IMP1681.

112. Ross AC, Judd S, Kumari M, Hileman C, Storer N, Labbato D, et al. Vitamin D is linked to carotid intima-media thickness and immune reconstitution in HIV-positive individuals. *Antivir Ther*. 2011;16(4):555-63. doi: 10.3851/IMP1784.

113. Lai H, Gerstenblith G, Fishman EK, Brinker J, Kickler T, Tong W, et al. Vitamin D deficiency is associated with silent coronary artery disease in cardiovascularly asymptomatic African Americans with HIV infection. *Clin Infect Dis*. 2012 Jun;54(12):1747-55. doi: 10.1093/cid/cis306.

114. Choi AI, Lo JC, Mulligan K, Schnell A, Kalapus SC, Li Y, et al. Association of vitamin D insufficiency with carotid intima-media thickness in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis*. 2011 Apr 1;52(7):941-4. doi: 10.1093/cid/ciq239.

115. Jablonski KL, Chonchol M, Pierce GL, Walker AE, Seals DR. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults. *Hypertension*. 2011;57:63-69.

116. Longenecker CT, Hileman CO, Carman TL, Ross AC, Seydafkan S, Brown TT, et al. Vitamin D supplementation and endothelial function in vitamin D deficient HIV-infected patients: a randomized placebo-controlled trial. *Antivir Ther.* 2012;17(4):613-21. doi: 10.3851/IMP1983.
117. Eckard AR, Raggi P, O'Riordan MA, Rosebush JC, Labbato D, Chahroudi A, et al Effects of vitamin D supplementation on carotid intima-media thickness in HIV-infected youth. *Virulence.* 2018 Jan 1;9(1):294-305. doi: 10.1080/21505594.2017.1365217.
118. Zevin AS, McKinnon L, Burgener A, Klatt NR. Microbial translocation and microbiome dysbiosis in HIV-associated immune activation. *Curr Opin HIV AIDS.* 2016 Mar;11(2):182-90.
119. Kelesidis T, Kendall MA, Yang OO, Hodis HN, Currier JS. Biomarkers of microbial translocation and macrophage activation: association with progression of subclinical atherosclerosis in HIV-1 infection. *J Infect Dis.* 2012 Nov 15;206(10):1558-67. doi: 10.1093/infdis/jis545.
120. Such J, Francés R, Muñoz C, Zapater P, Casellas JA, Cifuentes A, et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrhosis and culture-negative, nonneutrocytic ascites. *Hepatology.* 2002 Jul;36(1):135-41. doi: 10.1053/jhep.2002.33715.
121. Albillos A, de la Hera A, González M, Moya JL, Calleja JL, Monserrat J, et al. Increased lipopolysaccharide binding protein in cirrhotic patients with marked immune and hemodynamic derangement. *Hepatology.* 2003 Jan;37(1):208-17. doi: 10.1053/jhep.2003.50038.
122. Francés R, Rodríguez E, Muñoz C, Zapater P, De la ML, Ndongo M, et al. Intracellular cytokine expression in peritoneal monocyte/macrophages obtained from patients with cirrhosis and presence of bacterial DNA. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005 Jan;17(1):45-51. doi: 10.1097/00042737-200501000-00010.
123. Uematsu S, Sato S, Yamamoto M, Hirotani T, Kato H, Takeshita F, et al. Interleukin-1 receptor-associated kinase-1 plays an essential role for Toll-like receptor (TLR)7- and TLR9-mediated interferon- $\alpha$  induction. *J Exp Med.* 2005 Mar 21;201(6):915-23. doi: 10.1084/jem.20042372.
124. Chuang TH, Lee J, Kline L, Mathison JC, Ulevitch RJ. Toll-like receptor 9 mediates CpG-DNA signaling. *J Leukoc Biol.* 2002 Mar;71(3):538-44.
125. Wagner, G.S., C.J. Miller, and M.B. McChesney. CD4+ T cells and monocytes elicited by

immunization of rhesus monkeys with antigen-pulsed dendritic cells control SIV replication. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2002. 18(2): p. 143-8.

126. Manetti R, Gerosa F, Giudizi MG, Biagiotti R, Parronchi P, Piccinni MP, et al. Interleukin 12 induces stable priming for interferon gamma (IFN-gamma) production during differentiation of human T helper (Th) cells and transient IFN-gamma production in established Th2 cell clones. *J Exp Med*. 1994 Apr 1;179(4):1273-83. doi: 10.1084/jem.179.4.1273.

127. Cowdery JS, Chace JH, Yi AK, Krieg AM. Bacterial DNA induces NK cells to produce IFN-gamma in vivo and increases the toxicity of lipopolysaccharides. *J Immunol*. 1996 Jun 15;156(12):4570-5.

128. Sweet MJ, Stacey KJ, Kakuda DK, Markovich D, Hume DA. IFN-gamma primes macrophage responses to bacterial DNA. *J Interferon Cytokine Res*. 1998 Apr;18(4):263-71. doi: 10.1089/jir.1998.18.263.

129. Guarner C, Soriano G, Tomas A, Bulbena O, Novella MT, Balanzo J, et al. Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology*. 1993 Nov;18(5):1139-43.

130. Reus S, Portilla J, Sánchez-Payá J, Giner L, Francés R, Such J, et al. Low-level HIV viremia is associated with microbial translocation and inflammation. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 Feb 1;62(2):129-34. doi: 10.1097/QAI.0b013e3182745ab0.

131. Reus S, Portilla J, Boix V, Sánchez-Payá J, Gimeno A, Merino E. Inflammation and microbial translocation in treatment-controlled HIV patients. *Antivir Ther*. 2013;18(6):837-8. doi: 10.3851/IMP2642.

132. Villar-García J, Hernández JJ, Güerri-Fernández R, González A, Lerma E, Guelar A, et al. Effect of probiotics (*Saccharomyces boulardii*) on microbial translocation and inflammation in HIV-treated patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015 Mar 1;68(3):256-63.

133. Islam FM, Wu J, Jansson J, Wilson DP. Relative risk of cardiovascular disease among people living with HIV: a systematic review and meta-analysis. *HIV Med*. 2012 Sep;13(8):453-68.

134. Triant VA. Epidemiology of coronary Heart Disease in HIV patients. *Rev Cardiovasc Med*. 2014;15(01):S1-S8.

135. Wilson DP, Islam FM, Wu J, Jansson J. A critical epidemiological review of cardiovascular disease risk in HIV-infected adults: the importance of the HIV-uninfected comparison group, confounding, and competing risks--authors' reply. *HIV Med.* 2013 Mar;14(3):193-4. doi: 10.1111/hiv.12006.
136. Smit M, Brinkman K, Geerlings S, Smit C, Thyagarajan K, Sighem Av, et al; ATHENA Observational Cohort. Future challenges for clinical care of an ageing population infected with HIV: a modelling study. *Lancet Infect Dis.* 2015; 15:810–818.
137. Paisible AL, Chang CC, So-Armah KA, Butt AA, Leaf DA, Budoff M, et al. HIV infection, cardiovascular disease risk factor profile, and risk for acute myocardial infarction. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2015 Feb 1;68(2):209-16.
138. Bozzette SA, Ake CF, Tam HK, Chang SW, Louis TA. Cardiovascular and cerebrovascular events in patients treated for human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 2003;348:702–710.
139. Marconi VC, Duncan MS, So-Armah K, Re VL 3rd, Lim JK, Butt AA, et al. Bilirubin Is Inversely Associated With Cardiovascular Disease Among HIV-Positive and HIV-Negative Individuals in VACS (Veterans Aging Cohort Study). *J Am Heart Assoc.* 2018 May 2;7(10):e007792.
139. Lai S, Fishman EK, Lai H, Lai H, Moore R, Cofrancesco J, et al. Long-Term Cocaine Use and Antiretroviral Therapy Are Associated with Silent Coronary Artery Disease in African Americans with HIV Infection Who Have No Cardiovascular Symptoms. *Clin Infect Dis.* 2008 Feb 15;46:600-610.
140. Gutierrez J, Albuquerque ALA, Falzon L. HIV infection as vascular risk: A systematic review of the literature and meta-analysis. *PLoS One* 2017;12(5):e0176686.
141. Hsue PY, Giri K, Erickson S, MacGregor JS, Younes N, Shergill A, et al. Clinical features of acute coronary syndromes in patients with human immunodeficiency virus infection. *Circulation.* 2004 Jan 27;109(3):316-9. doi: 10.1161/01.CIR.0000114520.38748.AA.
142. Mehta NJ, Khan IA. HIV-Associated Coronary Artery Disease. *Angiology* 2003;54(3):269–75.
143. Ho JE, Hsue PY. Cardiovascular manifestations of HIV infection. *Heart* 2009;95(14):1193–202

144. Dorjee K, Baxi SM, Reingold AL, Hubbard A. Risk of cardiovascular events from current, recent, and cumulative exposure to abacavir among persons living with HIV who were receiving antiretroviral therapy in the United States: a cohort study. *BMC Infect Dis* 2017;17(1):708.
145. Masiá M, Padilla S, Álvarez D, López JC, Santos I, Soriano V, Hernández-Quero J, Santos J, Tural C, del Amo J, Gutiérrez F; CoRIS. Risk, predictors, and mortality associated with non-AIDS events in newly diagnosed HIV-infected patients: role of antiretroviral therapy. *AIDS*. 2013 Jan 14;27(2):181-9. doi: 10.1097/QAD.0b013e32835a1156.
146. NCEP-ATPIII. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the NCEP Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final report. *Circulation*. 2002;106:3143-421.
147. Calmy A, Gayet-Ageron A, Montecucco F, Nguyen A, Mach F, Burger F, et al; STACCATO Study Group. HIV increases markers of cardiovascular risk: results from a randomized, treatment interruption trial. *AIDS*. 2009 May 15;23(8):929-39.
148. Doobay AV, Anand SS. Sensitivity and specificity of the ankle-brachial index to predict future cardiovascular outcomes: a systematic review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Jul;25(7):1463-9.
149. ftomas DM, Divakaran S, Villines TC, Nasir K, Shah NR, Slim AM, et al. Management of Coronary Artery Calcium and Coronary CTA Findings. *Curr Cardiovasc Imaging Rep*. 2015;8(6):18.
150. Conroy RM, Pyörala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. on behalf of the SCORE project group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* 2003;24:987-1003.
151. Parra S, Coll B, Aragonés G, Marsillach J, Beltrán R, Rull A, et al Nonconcordance between subclinical atherosclerosis and the calculated Framingham risk score in HIV-infected patients: relationships with serum markers of oxidation and inflammation. *HIV Med*. 2010 Apr;11(4):225-31. doi: 10.1111/j.1468-1293.2009.00766.x.
152. Law MG, Friis-Møller N, El-Sadr WM, Weber R, Reiss P, D'Arminio Monforte A, et al. The use of the Framingham equation to predict myocardial infarctions in HIV-infected

patients: comparison with observed events in the D:A:D Study. *HIV Med* 2006;7:218-30.

153. Bernal E, Marín I, Muñoz A, Sabán J, Vicente-Vera T, Cano A. High Prevalence of Subclinical Atherosclerotic Disease in Spanish HIV-Infected Patients with Low Cardiovascular Risk. *AIDS Patient Care and STDs*. May 2011, 25(5): 269-272.

154. Serrano-Villar S, Estrada V, Gómez-Garre D, Ávila M, Fuentes-Ferrer M, San RJ, et al. Diagnosis of subclinical atherosclerosis in HIV-infected patients: higher accuracy of the D:A:D risk equation over Framingham and SCORE algorithms. *Eur J Prev Cardiol*. 2014 Jun;21(6):739-48.

155. Ristoffersen U, Kofoed K, Kronborg G, Giger A, Kjaer A, Lebech, A. Reduction in circulating markers of endothelial dysfunction in HIV-infected patients during antiretroviral therapy. *HIV Medicine* 2010: 79-87.

156. Rodger AJ, Fox Z, Lundgren JD, Kuller LH, Boesecke C, Gey D, et al; INSIGHT Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group. Activation and coagulation biomarkers are independent predictors of the development of opportunistic disease in patients with HIV infection. *J Infect Dis* 2009 Sep 15;200(6):973-83.

157. Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cífková R, Cosentino F, et al. The role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation: Endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society. *Atherosclerosis*. 2015 May 16;241(2):507-532.

158. Rothwell PM. Carotid artery disease and the risk of ischaemic stroke and coronary vascular events. *Cerebrovasc Dis* 2000;10 Suppl 5:21-33

159. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al; American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008 Feb;21(2):93-111; quiz 189-90. doi: 10.1016/j.echo.2007.11.011. Erratum in: *J Am Soc Echocardiogr*. 2008 Apr;21(4):376.

160. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An

- update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovasc Dis.* 2012;34(4):290-6. doi: 10.1159/000343145.
161. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007;115:459-467.
162. Foerch C, Buehler A, von Kegler S, Cister M. Intima media thickness side differences are limited to the common carotid artery. *Hipertensión.* 2003; 42:e17
163. Denarié N, Gariépy J, Chironi G, Massoneau M, Laskri F, Salomon J, et al. Distribution of ultrasonographically-assesed dimensions of common carotid arteries in healthy adults of both sexes. *Atherosclerosis.* 2000;148(2):297-302.
164. Touboul PJ. Intima-Media Thickness of Carotid arteries. *Front Neurol Neurosci.* 2015;36:31- 39.
165. Droste DW, Schulte V, Schomacher G, Knapp J, Ringelstein EB. Comparison of automatic intima media thickness measurement and eye balling. *Cerebrovasc Dis.* 2010;29:307- 309.
166. Seçil M, Altay C, Gülcü A, Çeçe H, Yigit Góktay A, Dicle O. Automated measurements of intima-media thickness of carotid arteries in ultrasonography by computer software. *Diagn Interv Radiology* 2005; 11:105-108.
167. Eigenbrodt ML, Bursac Z, Tracy RE, Mehta JL, Rose KM, Couper DJ. B-mode ultrasound common carotid artery intima-media thickness and external diameter: cross-sectional and longitudinal associations with carotid atherosclerosis in a large population sample. *Cardiovascular Ultrasound.* 2008; 5;6:10.
168. Junyent M, Gilabert R, Núñez I, Corbella E, Vela M, Zambón D, et al. Ecografía carotídea en la evaluación de arteriosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. *Med Clin (Barc)* 2005;125:770-4.
169. Grau M, Subirana I, Agis D, Ramos R, Basagaña X, Martí R, et al. Carotid intima-media thickness in the Spanish population: reference ranges and association with cardiovascular risk factors. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2012 Dec;65(12):1086-93. English, Spanish. doi: 10.1016/j.recesp.2012.04.026.

170. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, et al. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. *Stroke*. 1993;24:1297-1304.
171. Polak JF, O'Leary DH, Kronmal RA, Wolfson SK, Bond MG, Tracy RP, et al. Sonographic evaluation of carotid artery atherosclerosis in the elderly: relationship of disease severity to stroke and transient ischemic attack. *Radiology*. 1993 Aug;188(2):363-70.
172. Gupta A, Kesavabhotla K, Baradaran H, Kamel H, Pandya A, Giambrone AE, et al. Plaque echolucency and stroke risk in asymptomatic carotid stenosis: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2015 Jan;46(1):91-7.
173. Gronholdt ML. Ultrasound and lipoproteins as predictors of lipid-rich, rupture-prone plaques in the carotid artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:2-13
174. Polak JF, Shemanski L, O'Leary DH, Lefkowitz D, Price TR, Savage PJ, et al. Hypoechoic plaque at US of the carotid artery: an independent risk factor for incident stroke in adults aged 65 years or older: Cardiovascular Health Study. *Radiology* 1998; 208:649-654.
175. Gronholdt ML, Nordestgaard BG, Schroeder TV, Vorstrup S, Sillesen H. Ultrasonic echolucent carotid plaques predict future strokes. *Circulation*. 2001;104:68-73.
176. Mathiesen EB, Bonna KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: the Tromso study. *Circulation* 2001;103:2171-2175.
177. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999 Jan 7;340(1):14-22.
178. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997 Sep 15;146(6):483-94.
179. Iglesias del Sol A, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, Witteman JCM. Carotid intima-media thickness at different sites: relation to incident myocardial infarction; The Rotterdam Study. *Eur Heart J*. 2002 Jun;23(12):934-40.



180. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke J Cereb Circ.* 2006 Jan;37(1):87–92.
181. Rosvall M, Janzon L, Berglund G, Engström G, Hedblad B. Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid intima-media thickness. *J Intern Med.* 2005 May;257(5):430–7.
182. Folsom AR, Kronmal RA, Detrano RC, O’Leary DH, Bild DE, Bluemke DA, et al. Coronary artery calcification compared with carotid intima-media thickness in the prediction of cardiovascular disease incidence: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Arch Intern Med.* 2008 Jun 23;168(12):1333–9.
183. Polak JF, Pencina MJ, Pencina KM, O’Donnell CJ, Wolf PA, D’Agostino RB. Carotid-wall intima-media thickness and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2011 Jul 21;365(3):213–21.
184. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol.* 2000 Mar 1;151(5):478–87.
185. Hollander M, Hak AE, Koudstaal PJ, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, et al. Comparison between measures of atherosclerosis and risk of stroke: the Rotterdam Study. *Stroke J Cereb Circ.* 2003 Oct;34(10):2367–72.
186. Li C, Engström G, Berglund G, Janzon L, Hedblad B. Incidence of ischemic stroke in relation to asymptomatic carotid artery atherosclerosis in subjects with normal blood pressure. A prospective cohort study. *Cerebrovasc Dis Basel Switz.* 2008;26(3):297–303.
187. Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Selzer RH, Liu CR, Liu CH, et al. The role of carotid arterial intima-media thickness in predicting clinical coronary events. *Ann Intern Med.* 1998 Feb 15;128(4):262-9. doi: 10.7326/0003-4819-128-4-199802150-00002.
188. Johnsen SH, Mathiesen EB. Carotid Plaque compared to intima-media thickness as a predictor of coronary and cerebrovascular diseases. *Current Cardiology Reports* 2009;11:21-27.
189. Johnsen SH, Mathiesen EB, Joakimsen O, Stensland E, Wilsgaard T, Lochen ML, et al. Carotid atherosclerosis is a stronger predictor of myocardial infarction in women than in

men: a 6-year follow-up study of 6226 persons: the Tromsø Study. *Stroke* 2007;38(11):2873-80.

190. Salonen JT, Salonen R. Ultrasonographically assessed carotid morphology and the risk of coronary heart disease. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology / American Heart Association*. 1991;11(5):1245-9

191. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke*. 2006;37:87– 92.

192. Rosvall M, Janzon L, Berglund G, Engstrom G, Hedblad B. Incidence of stroke is related to carotid IMT even in the absence of plaque. *Atherosclerosis* 2005b;179:325–331.

193. Hollander M, Bots ML, Iglesias del Sol A, Koudstaal PJ, Witteman JCM, Grobbee DE, et al. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly. The Rotterdam Study. *Circulation*. 2002;105:2872-2877.

194. Murakami S, Otsuka K, Hotta N, Yamanaka G, Kubo Y, Matsuoka O, et al. Common carotid intima-media thickness is predictive of all-cause and cardiovascular mortality in elderly community-dwelling people: Longitudinal Investigation for the Longevity and Aging in Hokkaido County (LILAC) study. *Biomed Pharmacother*. 2005 Oct;59 Suppl 1:S49-53.

195. Kitamura A, Iso H, Imano H, Ohira T, Okada T, Sato S, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2004;35(12):2788-94.

196. van den Oord SC, Sijbrands EJ, ten Kate GL, van Klaveren D, van Domburg RT, van der Steen AF, et al. Carotid intima-media thickness for cardiovascular risk assessment: systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2013;228(1):1-11.

197. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: a meta-analysis, *Atherosclerosis*. 2012; 220: 128-133.

198. Peters SA, den Ruijter HM, Bots ML, Moons KG. Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review. *Heart*. 2012; 98: 177e184.

199. Xie W, Wu Y, Wang W, Zhao D, Liang L, Wang M, et al. A longitudinal study of carotid

plaque and risk of ischemic cardiovascular disease in the Chinese population. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography*. 2011;24(7):729-37.

200. Wannarong T, Parraga G, Buchanan D, Fenster A, House AA, Hackam DG, et al. Progression of carotid plaque volume predicts cardiovascular events. *Stroke; a journal of cerebral circulation*. 2013;44(7):1859-65.

201. Sabeti S, Schlager O, Exner M, Mlekusch W, Amighi J, Dick P, et al. Progression of carotid stenosis detected by duplex ultrasonography predicts adverse outcomes in cardiovascular high risk patients. *Stroke* 2007;38:2887-2894.

202. Spence JD, Eliasziw M, DiCicco M, Hackam DG, Galil G, Lohmann T. Carotid plaque area: a tool for targeting and evaluating vascular preventive therapy. *Stroke* 2002;33:2916-2922

203. De Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109[suppl III]:III-33-III-38.

204. Mazzone T, Meyer PM, Feinsein SB, Davidson MH, Kondos GT, D'Agostino RB, et al. Effect of pioglitazone compared with glimepiride on carotid intima-media thickness in type 2 diabetes: a randomized trial. *JAMA* 2006;296:2572-2581.

205. Tattersall MC, Gassett A, Korcarz CE, Gepner AD, Kaufman JD, Liu KJ, et al. Predictors of carotid thickness and plaque progression during a decade: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Stroke*. 2014 Nov;45(11):3257-62.

206. Dalager S, Paaske WP, Kristensen IB, Laurberg JM, Falk E. Artery-Related Differences in Atherosclerosis Expression - Implications for Atherogenesis and Dynamics in Intima-Media Thickness. *Stroke*. 2007;38(10):2698-2705.

207. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *European heart journal*. 2016;37(39):2999-3058.

208. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al; ESC Scientific Document Group. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by

representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J*. 2016 Aug 1;37(29):2315-2381. doi: 10.1093/eurheartj/ehw106.

209. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, et al; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Dec 14;56(25):e50-103. doi: 10.1016/j.jacc.2010.09.001.

210. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2019 Sep 10;140(11):e596-e646. doi: 10.1161/CIR.0000000000000678. Epub 2019 Mar 17. Erratum in: *Circulation*. 2019 Sep 10;140(11):e649-e650. Erratum in: *Circulation*. 2020 Jan 28;141(4):e60. Erratum in: *Circulation*. 2020 Apr 21;141(16):e774.

211. Hsue PY, Scherzer R, Hunt PW, Schnell A, Bolger AF, Kalapus SC, et al. Carotid Intima-Media Thickness Progression in HIV-Infected Adults Occurs Preferentially at the Carotid Bifurcation and Is Predicted by Inflammation. *J Am Heart Assoc*. 2012 Apr;1(2):jah3-e000422. doi: 10.1161/JAHA.111.000422.

212. Hsue PY, Lo JC, Franklin A, Bolger AF, Martin JN, Deeks SG, et al. Progression of Atherosclerosis as Assessed by carotid Intima-Media Thickness in patients with HIV infection. *Circulation*. 2004;109:1603-1608.

213. Grunfeld C, Delaney JA, Wanke C, Currier JS, Scherzer R, Biggs ML, et al. Preclinical atherosclerosis due to HIV infection: carotid intima-medial thickness measurements from the FRAM study. *AIDS*. 2009; 23: 1841-1849.

214. Mercie P, Thiebaut R, Aurillac-Lavignolle V, Pellegrin JL, Yvorra-Vives MC, Cipriano C, et al. Carotid intima-media thickness is slightly increased over time in HIV-1 infected patients. *HIV Medicine* 2005;6:380-387.

215. Johnsen S, Dolan SE, Fitch KV, Kanter JR, Hemphill LC, Connelly JM, et al. Carotid intimal medial thickness in HIV infected women: effects of protease inhibitor use, cardiac risk factors and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(12):4916-24.

216. Currier JS, Kendall MA, Zackin R, Henry WK, Alston-Smith B, Torriani FJ, et al. Carotid artery intima-media thickness and HIV infection: traditional risk factors overshadow impact of protease inhibitor exposure. *AIDS*. 2005;19(9): 927-933.
217. Kaplan RC, Kingsley LA, Gange SJ, Benning L, Jacobson LP, Lazar J, et al. Low CD4+ T-cell count as a major atherosclerosis risk factor in HIV-infected women and men. *AIDS* 2008;22:1615-1624.
218. Mondy KE, de las Fuentes L, Waggoner A, Onen NF, Bop CS, Lassa-Claxton S, et al. Insulin resistance predicts endothelial dysfunction and cardiovascular risk in HIV-infected persons on long-term highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2008; 22:849-856.
219. Currier JS, Kendall MA, Henry WK, Alston-Smith B, Torriani FJ, Tebas P, et al. Progression of carotid artery intima-media thickening in HIV-infected and uninfected adults. *AIDS*. 2007; 21:1137-1145.
220. Mangili A, Polak JF, Skinner SC, Gerrior J, Sheehan H, Harrington A, et al. HIV infection and progression of carotid and coronary atherosclerosis: the CARE study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 Oct 1;58(2):148-53.
221. Depairon M, Chessex S, Sudre P, Rodondi N, Doser N, Chave JP, et al; Swiss HIV Cohort Study. Premature atherosclerosis in HIV-infected individuals. Focus on protease inhibitor therapy. *AIDS*. 2001;15(3):329-34.
222. Mercie P, Thiebaut R, Lavignolle V, Pellegrin JL, Yvorra-Vives M, Morlat P, et al. Evaluation of cardiovascular risk factors in HIV-1 infected patients using carotid-intima media thickness measurement. *Ann Med* 2002;34:55-63.
223. Chironi G, Escaut L, Garipey J, Cogny A, Monsuez J, Levenson J, et al. Brief report: carotid intima-media thickness in heavily pretreated HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32:490-3.
224. Hemkens LG, Bucher HC. HIV infection and cardiovascular disease. *Eur Heart J*. 2014; 35: 1373-1381.
225. Sosner P, Wangermez M, Chagneau-Derrode C, Le Moal G, Silvain C. Atherosclerosis risk in HIV-infected patients: the influence of hepatitis C virus co-infection. *Atherosclerosis*. 2012 May;222(1):274-7. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.02.027.
240. Legein B, Temmerman L, Biessen EA, Lutgens E. Inflammation and immune system

interactions in atherosclerosis. *Cell Mol Life Sci.* 2013 Oct;70(20):3847-69. doi: 10.1007/s00018-013-1289-1.

241. Jain V, Hartogensis W, Bacchetti P, Hunt PW, Hatano H, Sinclair E, et al. Antiretroviral therapy initiated within 6 months of HIV infection is associated with lower T-cell activation and smaller HIV reservoir size. *J Infect Dis.* 2013 Oct 15;208(8):1202-11. doi: 10.1093/infdis/jit311.

242. Baker JV, Henry WK, Patel P, Bush TJ, Conley LJ, Mack WJ, et al.; Study to Understand the Natural History of HIV/AIDS in the Era of Effective Therapy Investigators. Progression of carotid intima-media thickness in a contemporary human immunodeficiency virus cohort. *Clin Infect Dis.* 2011 Oct;53(8):826-35.

243. Baker JV, Peng G, Rapkin J, Abrams DI, Silverberg MJ, MacArthur RD, et al. CD4+ count and risk of non-AIDS diseases following initial treatment for HIV infection. *AIDS* 2008;22:841-848.

244. Baker JV, Peng G, Rapkin J, Krason D, Reilly C, Cavert WP, et al. Poor initial CD4+ recovery with antiretroviral therapy prolongs immune depletion and increases risk for AIDS and non-AIDS diseases. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008b;48:541-546.

245. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, El Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med* 2006;355:2283-96.

246. Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, Emery S, Neuhaus JA, Phillips AN, Babiker A, Cohen CJ, et al. Major clinical outcomes in antiretroviral therapy (ART)-naive participants and in those not receiving ART at baseline in the SMART study. *J Infect Dis.* 2008;15:197(8):1133-44.

247. Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, Kalapus SC, Hoh R, Ganz P, et al. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *AIDS.* 2009;23(9):1059-67.

248. Pereyra F, Lo J, Triant VA, Wei J, Buzon MJ, Fitch KV, et al. Increased coronary atherosclerosis and immune activation in HIV-1 elite controllers. *AIDS.* 2012 Nov 28;26(18):2409-12. doi: 10.1097/QAD.0b013e32835a9950.

249. Stein JH, Currier JS, Hsue PY. Arterial disease in patients with human immunodeficiency virus infection: what has imaging taught us?. *JACC Cardiovasc*

Imaging.2014;7(5):515-525.

250. Burdo TH, Lo J, Abbara S, Wei J, DeLelys ME, Preffer F, et al. Soluble CD163, a novel marker of activated macrophages, is elevated and associated with noncalcified coronary plaque in HIV-infected patients. *J Infect Dis.* 2011 Oct 15;204(8):1227-36. doi: 10.1093/infdis/jir520.

251. Streng KW, Voors AA, Hillege HL, Anker SD, Cleland JG, Dickstein K, et al. Waist-to-hip ratio and mortality in heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2018 Sep;20(9):1269-1277. doi: 10.1002/ejhf.1244.

252. Dimala CA, Ngu RC, Kadia BM, Tianyi FL, Choukem SP. Markers of adiposity in HIV/AIDS patients: Agreement between waist circumference, waist-to-hip ratio, waist-to-height ratio and body mass index. *PLoS One.* 2018 Mar 22;13(3):e0194653. doi: 10.1371/journal.pone.0194653.

253. Portilla J, Moreno-Pérez O, Serna-Candel C, Escoín C, Alfayate R, Reus S, et al. Vitamin D insufficiency and subclinical atherosclerosis in non-diabetic males living with HIV. *J Int AIDS Soc.* 2014 May 13;17(1):18945. doi: 10.7448/IAS.17.1.18945.

254. Mueller NJ, Fux CA, Ledergerber B, Elzi L, Schmid P, Dang T, et al. Swiss HIV Cohort Study. High prevalence of severe vitamin D deficiency in combined antiretroviral therapy-naive and successfully treated Swiss HIV patients. *AIDS.* 2010; 24: 1127– 34.

255. Vescini F, Cozzi-Lepri A, Borderi M, Re MC, Maggiolo F, De Luca A, et al; Icona Foundation Study Group. Prevalence of hypovitaminosis D and factors associated with vitamin D deficiency and morbidity among HIV-infected patients enrolled in a large Italian cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011 Oct 1;58(2):163-72. doi: 10.1097/QAI.0b013e31822e57e9.

256. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Priego A, Valdecabres C, Carmena R, et al. Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética. *Med Clin (Barc).* 2001; 117: 530-533.

257. Bernal E, Masiá M, Padilla S, Ramos JM, Martín-Hidalgo A, Gutiérrez F. Resistencia insulínica en pacientes con infección por el VIH en tratamiento prolongado con efavirenz, lopinavir/ritonavir y atazanavir [Insulin resistance in HIV-infected patients receiving long-term therapy with efavirenz, lopinavir/ritonavir and atazanavir]. *Med Clin (Barc).* 2007 Jul 14;129(7):252-4.

258. Palacios R, Merchante N, Macias J, González M, Castillo J, Ruiz J, et al. Incidence of and risk factors for insulin resistance in treatment-naive HIV-infected patients 48 weeks after starting highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther.* 2006;11(4):529-35.
259. Behrens G, Dejam A, Schmidt H, Balks HJ, Brabant G, Körner T, et al. Impaired glucose tolerance, beta cell function and lipid metabolism in HIV patients under treatment with protease inhibitors. *AIDS.* 1999 Jul 9;13(10):F63-70. doi: 10.1097/00002030-199907090-00001.
260. Hanna DB, Post WS, Deal JA, Hodis HN, Jacobson LP, Mack WJ, et al. HIV Infection Is Associated With Progression of Subclinical Carotid Atherosclerosis. *Clin Infect Dis.* 2015 Aug 15;61(4):640-50. doi: 10.1093/cid/civ325.
261. Alcaide ML, Rodriguez VJ, Abbamonte JM, Pallikuth S, Langlie J, Soni M, et al. HIV and carotid atherosclerosis: a mediational model. *AIDS Care.* 2020 Jul;32(7):907-911. doi: 10.1080/09540121.2019.1668527.
262. Ibáñez L, Velli PS, Font R, Jaén A, Royo J, Irigoyen D, et al. HIV-infection, atherosclerosis and the inflammatory pathway: candidate gene study in a Spanish HIV-infected population. *PLoS One.* 2014 Nov 10;9(11):e112279. doi: 10.1371/journal.pone.0112279.
263. Stein JH, Brown TT, Ribaldo HJ, Chen Y, Yan M, Lauer-Brodell E, et al. Ultrasonographic measures of cardiovascular disease risk in antiretroviral treatment-naive individuals with HIV infection. *AIDS* 2013;27:929–37.
264. Piconi S, Parisotto S, Rizzardini G, Passerini S, Meraviglia P, Schiavini M, et al. Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-infected antiretroviral-naive or treated individuals. *AIDS* 2013;28:381–9.
265. Albuquerque VM, Zíropoli JC, de Barros Miranda-Filho D, Albuquerque Mde F, Montarroyos UR, de Alencar Ximenes RA, et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in HIV-infected patients under and over 40 years: a case-control study. *BMC Infect Dis.* 2013 Jun 18;13:274. doi: 10.1186/1471-2334-13-274.
266. Bernal E, Marín I, Muñoz A, Sabán J, Vicente-Vera T, Cano A. High Prevalence of Subclinical Atherosclerotic Disease in Spanish HIV-Infected Patients with Low Cardiovascular Risk. *AIDS Patient Care and STDs.* May 2011, 25(5): 269-272.
267. Desvarieux M, Boccara F, Meynard JL, Bastard JP, Mallat Z, Charbit B, et al. Infection duration and inflammatory imbalance are associated with atherosclerotic risk in HIV-



infected never-smokers independent of antiretroviral therapy. *AIDS*. 2013 Oct 23;27(16):2603-14.

268. Schwartz DM, Burma AM, Kitakule MM, Luo Y, Mehta NN. T Cells in Autoimmunity-Associated Cardiovascular Diseases. *Front Immunol*. 2020 Oct 7;11:588776. doi: 10.3389/fimmu.2020.588776.

269. Bernal Morell E, Serrano Cabeza J, Muñoz Á, Marín I, Masiá M, Gutiérrez F, et al. The CD4/CD8 Ratio is Inversely Associated with Carotid Intima-Media Thickness Progression in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients on Antiretroviral Treatment. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2016 Jul;32(7):648-53. doi: 10.1089/AID.2015.0385.

270. Nordell AD, McKenna M, Borges AH, Duprez D, Neuhaus J, Neaton JD, et al. Severity of cardiovascular disease outcomes among patients with HIV is related to markers of inflammation and coagulation. *J Am Heart Assoc* 2014;28:e000844.

271. Schouten J, Wit FW, Stolte IG, Kootstra NA, van der Valk M, Geerlings SE, et al. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between HIV-infected and uninfected individuals: the AGEHIV cohort study. *Clin Infect Dis* 2014;15:1787–97.

272. Mavigner M, Cazabat M, Dubois M, L'Faqihi FE, Requena M, Pasquier C, et al. Altered CD4+ T cell homing to the gut impairs mucosal immune reconstitution in treated HIV-infected individuals. *J Clin Invest*. 2012 Jan;122(1):62-9. doi: 10.1172/JCI59011.

273. Leon A, Leal L, Torres B, Lucero C, Inciarte A, Arnedo M, et al. Association of microbial translocation biomarkers with clinical outcome in controllers HIV-infected patients. *AIDS* 2015;27:675–81.

274. Shahbaz S, Manicardi M, Guaraldi G, Raggi P. Cardiovascular disease in human immunodeficiency virus infected patients: A true or perceived risk? *World J Cardiol* 2015;7(10):633–44.

275. Phan BAP, Weigel B, Ma Y, Scherzer R, Li D, Hur S, et al. Utility of 2013 American College of Cardiology/American Heart Association Cholesterol Guidelines in HIV-Infected Adults With Carotid Atherosclerosis. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2017 Jul;10(7):e005995. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.116.005995.

276. Hsue PY, Ordovas K, Lee T, Reddy G, Gotway M, Schnell A, et al. Carotid intima-media thickness among human immunodeficiency virus-infected patients without coronary

calcium. *Am J Cardiol.* 2012 Mar 1;109(5):742-7. doi: 10.1016/j.amjcard.2011.10.036.

277. Janjua SA, Staziaki PV, Szilveszter B, Takx RAP, Mayrhofer T, Hennessy O, et al. Presence, Characteristics, and Prognostic Associations of Carotid Plaque Among People Living With HIV. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2017 Oct;10(10):e005777. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.116.005777.

278. Naqvi TZ, Lee MS. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2014 Oct;7(10):1025-38. doi: 10.1016/j.jcmg.2013.11.014.

279. Ryom L, Cotter A, De Miguel R, Béguelin C, Podlekareva D, Arribas JR, et al; EACS Governing Board. 2019 update of the European AIDS Clinical Society Guidelines for treatment of people living with HIV version 10.0. *HIV Med.* 2020 Nov;21(10):617-624.

280. Longenecker CT, Eckard AR, McComsey GA. Statins to improve cardiovascular outcomes in treated HIV infection. *Curr Opin Infect Dis* 2016;29:1–9.

281. Lo J, Lu MT, Ihenachor EJ, Wei J, Looby SE, Fitch KV, et al. Effects of statin therapy on coronary artery plaque volume and high-risk plaque morphology in HIV-infected patients with subclinical atherosclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet HIV* 2015;2:e52–63.

282. Klein DB, Leyden WA, Xu L, Chao C, Horberg M, Towner W, et al. Declining relative risk for myocardial infarction among HIV-positive compared with HIV-negative individuals with access to care. *Clin Infect Dis* 2015;15:1278–80.

283. Hileman CO, Kinley B, Scharen-Guivel V, Melbourne K, Szwarcberg J, Robinson J, et al. Differential reduction in monocyte activation and vascular inflammation with integrase inhibitor-based initial antiretroviral therapy among HIV-infected individuals. *J Infect Dis* 2015;1:345–54.

284. Kelesidis T, Tran TT, Stein JH, Brown TT, Moser C, Ribaud H, et al. Changes in inflammation and immune activation with atazanavir-, raltegravir-, darunavir-based initial antiviral therapy: ACTG 5260s. *Clin Infect Dis* 2015;15:651–60.



## **Anexos**

## 1. Artículo publicado

**TITLE: Subclinical atherosclerosis in low Framingham risk HIV patients**

**AUTHORS:** MD Rafael LEÓN (1), PhD Sergio REUS (1), PhD Nicolás LÓPEZ (2), BPsych Irene PORTILLA (1), PhD José SÁNCHEZ-PAYÁ (3), BPharm Livia GINER (1), PhD Vicente BOIX (1), PhD Esperanza MERINO (1), PhD Diego TORRÚS (1), PhD Óscar MORENO (4), PhD Joaquín PORTILLA (1)

(1) Infectious Diseases, (2) Neurology, (3) Public Health and (4) Endocrinology Services. Hospital General Universitario de Alicante. Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante, ISABIAL - FISABIO, Alicante, Spain

### **Correspondence:**

Rafael León

Infectious Diseases Unit

Hospital General Universitario de Alicante

Alicante, 03010.Spain

Fax: 965245971. Telephone: 0034 652281760

e-mail: leonr86@hotmail.com



**Abstract:**

**Background:** Pathogenesis of atherosclerosis is complex and differences between HIV-infected patients and general population cannot be completely explained by the higher prevalence of traditional cardiovascular risk factors. We aimed to analyse the association between inflammation and subclinical atherosclerosis in HIV patients with low Framingham risk score.

**Materials and methods:** Case-control study. **Setting:** outpatient Infectious Diseases clinic in a university hospital. **Subjects:** HIV-1 infected patients aged >35 years receiving antiretroviral treatment with viral load <50 copies/mL and Framingham risk score <10%. Exclusion criteria: inflammatory diseases; dyslipidemia requiring statins; smoking >5 cigarettes/day; diabetes; hypertension; vascular diseases. **Main outcome:** subclinical atherosclerosis determined by ultrasonography: common carotid intima-media thickness greater than 0.8mm or carotid plaque presence. **Explanatory variables:** ribosomal bacterial DNA (rDNA), sCD14, interleucin 6 (IL6) and TNF- $\alpha$ .

**Results:** Eighty four patients were included, 75% male, mean age 42 years and mean CD4+ cells  $657 \pm 215/\text{mm}^3$ . Median Framingham risk score was 1% at 10 years (percentile 25-75: 0.5-4%). Eighteen patients (21%) had subclinical atherosclerosis, the associated factors were older age (p 0.001), waist-hip ratio (p 0.01), time from HIV diagnosis (p 0.02), rDNA (p 0.04) and IL6 (p 0.01). In multivariate analysis, OR for subclinical atherosclerosis was 7 (IC95% 1.3-40) and 9 (IC95% 1.0-85) for patients older than 44 years and IL6>6.6 pg/mL respectively.

**Conclusions:** Well controlled HIV patients with low Framingham risk score have a high prevalence of subclinical carotid atherosclerosis and the main risk factors are age and inflammation. These patients are not receiving primary prophylaxis for cardiovascular events according to current guidelines.

**Key words:** HIV, subclinical atherosclerosis, intima-media thickness, inflammation, microbial translocation

## Introduction

HIV infected patients have an increased atherosclerosis incidence and cardiovascular morbidity. Pathogenesis of atherosclerosis is complex and differences between HIV-infected patients and general population are not completely explained by a higher prevalence of traditional cardiovascular risk factors (CVRF) such as hypertension, diabetes mellitus, smoking and dyslipidemia (1).

Atherosclerosis behaves as a chronic inflammatory disease and there are strong data supporting a relationship between inflammation (measured through surrogate markers) and development of cardiovascular events. The role of inflammation can be even more important in HIV-patients, as many inflammatory markers, such as interleucin-6 (IL6), are higher in HIV infection, and do not normalize with ART (2,3). Prospective observational studies and clinical trials support this association (4). The origin of this inflammatory state is probably multifactorial, but microbial translocation (MT) could be the main pathogenic mechanism (5). MT, consisting on bacterial products passage through the intestinal wall, can be assessed with some plasma markers such as bacterial ribosomal DNA (rDNA) or soluble CD14 (sCD14) (6,7).

Well-controlled HIV-infected patients without CVRF seem to have an increased risk of cardiovascular events. It has been hypothesized that inflammation could be the main pathogenic mechanism of atherosclerosis in these patients. In order to clarify that question, we have studied a group of HIV patients with very low cardiovascular risk, measured with the Framingham score, to determine the subclinical carotid atherosclerosis prevalence and its relationship with inflammatory and MT markers. Carotid ultrasonography is a technique easy to perform, quick and innocuous and can show up the presence of carotid plaques or intima-media thickening, which have been associated with coronary atherosclerosis and could predict cardiovascular events even in patients with low Framingham Risk (8).

## **Material and methods**

**Design:** case-control study. Reporting of the study conforms to STROBE statement along with references to STROBE statement and the broader EQUATOR guidelines (Simera et al. January 2010 issue of EJCI).

**Study subjects:** Adults over 35 years with HIV infection receiving treatment and with HIV VL <50 copies/ml at least for one year.

Exclusion criteria: Poor adherence to antiretroviral therapy (ART) (self-reported intake <95% of the planned dose in the last 15 days), chronic viral hepatitis, alcohol consumption >30 g/day, active illegal drug consumption or current smoking (more than 5 cigarettes/day), inflammatory diseases of any etiology, active cancer, active infection, antibiotics intake or gastrointestinal bleeding within the last month, diabetes mellitus (fasting glucose >126 mg/dL or HbA1c >6.5%), high blood pressure (HBP), dyslipidaemia requiring statins, renal impairment (estimated glomerular filtrate <60 ml/min), known cardiovascular disease, dementia or any other central nervous system disease, severe psychiatric illness. The study was approved by the local Ethics Committee and patients signed an informed consent.

**Endpoint:** subclinical atherosclerosis, defined as the presence of carotid plaque or common carotid intima-media thickness (CIMT) >0.800 mm.

**Main explanatory variables:** Markers of microbial translocation (MT) (rDNA, sCD14) and inflammation (IL6 and TNF- $\alpha$ ) in plasma.

**Other studied variables:** Sociodemographic: age, sex, risk factor for HIV acquisition, nationality, race. HIV related variables: year of diagnosis, **CDC** stage, CD4+ and CD8+ lymphocytes, HIV viral load (VL), current ART. Physical examination: weight, height, body mass index (BMI), waist-hip ratio, blood pressure.

Vascular risk factors: total and HDL cholesterol; abnormal fast glucose, defined by fasting glucose 106-125 mg/dL or HbA1c 5.7-6%; smoking; sedentarism (exercise <3 hours/week); family history of cardiovascular disease; and 25-OH-vitamin D levels. Framingham vascular risk was calculated with the data of age, sex, total cholesterol, HDL, smoking and systolic blood pressure (<http://cvdrisk.nhlbi.nih.gov>).

**Data collection:** clinical data were obtained from the medical records and by personal interview. A fasting blood sample was obtained for blood count, biochemistry, CD4+ and CD8+ cells, HIV-VL, 25-OH-vitamin D and markers of MT and inflammation.

**Carotid ultrasonography** was performed by a single sonographer certified by the Spanish Society of Neurology, blind to clinical and analytical data, using a CV 50 PHILIPS ultrasound device with a high frequency linear probe (L12-3), at the maximum frequency in the resolution setting, with depth of field between 3 and 4 and single focus. Patient was placed in supine with the neck extended and rotated 45 degrees. Carotid intima media thickness (CIMT) was measured twice in both common carotids. Measurement was performed during the diastolic phase, in the posterior wall of the common carotid, one centimetre below carotid bifurcation. QLAB software vs 8.1 takes multiple automatic measurements of the selected segment and obtains the mean value. The value reported as "CIMT" for each patient was the average of mean CIMT values. The presence of plaques was determined in carotid (common and internal), and carotid bulb. These segments were scanned in several views (anterior, lateral and posterior) to identify plaques defined as follows: focal wall thickening 50% or greater than the thickness of the surrounding wall; focal wall thickening penetrating at least 0.5 mm in the artery lumen; a localized area with CIMT>1.5 mm, which enters the lumen and is clearly distinguished from the surrounding area (9).



**Bacterial DNA (rDNA)** was amplified by PCR of the 16S ribosomal gene as previously described (10). Plasma levels of **sCD14, TNF- $\alpha$  and IL6** were determined by ELISA following the manufacturer's instructions (R & D Systems). HIV-VL was determined by ultrasensitive PCR (COBAS AmpliPrep / COBAS TaqMan HIV-1 test vs 2.0, Roche Diagnostics).

## Data Analysis

Qualitative variables are expressed as absolute frequencies and percentages. Parametric variables are expressed as means  $\pm$  standard deviation (SD) and nonparametric variables as medians and percentiles 25-75 ( $P_{25-75}$ ).

The population was analyzed in accordance with the presence of carotid atherosclerosis. To quantify the association between explanatory variables and subclinical atherosclerosis, quantitative variables were turned on dichotomic variables using the cutoffs that best discriminate between groups. Chi-squared Test was used and the odds ratio (OR) with its 95% confidence interval (CI95%) was calculated. Multivariate, unconditional logistic regression analysis was performed to identify factors independently associated with subclinical atherosclerosis. First model included age, sex, CVRF and all variables showing  $p < 0.20$  in the univariate model, with the exception of biomarkers. A second model was performed including biomarkers. In the third model, Framingham risk score was included instead of component variables (age, sex, total cholesterol, HDL, smoking and systolic blood pressure).

To study the association between the qualitative variables and CIMT, the Student t-test or Mann-Whitney U-test were used. To study correlations between quantitative variables and CIMT, the Pearson and Spearman tests were used as appropriate.

Linear regression analysis was used to identify factors independently associated with CIMT, including all variables yielding  $p < 0.20$  in the bivariate analysis and those considered clinically relevant.

In all cases, a p-value of  $< 0.05$  was considered statistically significant. The SPSS version 19.1 statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used.

## **Results**

### **Characteristics of patients**

Eighty four patients were included in this study (table 1). Overall, mean age was  $42 \pm 7$  years, and the majority of participants were men (75%) and MSM (57%). All participants were receiving ART and 92% had VL  $< 50$  copies/mL, with a mean CD4+ T-cell count of  $657 \pm 217$  cell/mm<sup>3</sup>.

Median Framingham risk score was very low, 1% at 10 years ( $P_{25-75}$  0.5-4 years), since most cardiovascular risk factors (CVRF) were exclusion criteria (HBP, dyslipidemia requiring statins, diabetes and smoking  $> 5$  cigarettes/day). Mean BMI was  $25.3 \pm 3$  kg/m<sup>2</sup>, mean total cholesterol was  $182 \pm 36$  mg/dL, 51% were smokers (12% current smokers) and 49% had family history of cardiovascular disease. Among smokers, median pack-years was 8 ( $P_{25-75}$  4-21).

Ultrasonography showed carotid plaque in 18 patients (21%) and the mean CIMT was  $0.5595 \pm 0.101$ mm. CIMT was higher in patients with plaque ( $0.6070$  vs  $0.5470$ mm,  $p$  0.03). Only 3 patients had CIMT  $> 0.8$ mm, and all three had carotid plaque, so increased CIMT was only found in patients with carotid plaque.

Biomarkers results are shown in table 1. Prevalence of MT (rDNA) was 41%, mean value of sCD14 was 13.1+3.8 ng/mL and median value of IL6 and TNF 6.6 (P<sub>25-75</sub> 4.2-34) and 76 (P<sub>25-75</sub> 43-78) pg/mL respectively.

### **Factors Associated with subclinical atherosclerosis**

Table 1 shows the different parameters related to the presence of subclinical atherosclerosis. The variables that were significantly ( $p < .05$ ) in univariate analysis included older age, waist-hip ratio, time from HIV diagnosis, rDNA and IL6 levels. There were non significant trends to the association between subclinical atherosclerosis and male ( $p$  0.13), smoking ( $p$  0.14), family history of cardiovascular disease ( $p$  0.09) and low CD4+ cell count ( $p$  0.13). Proportion of participants receiving protease inhibitors was similar between groups.

Table 2 shows the correlation between the different variables and subclinical atherosclerosis. The first model of multivariate analysis including age, sex, CVRF and variables with  $p < 0.20$  in univariate analyses showed that only age was significantly associated with subclinical atherosclerosis (OR 5.2 for age >44 years,  $p$  0.03). In the second model, that includes biomarkers, only age and IL6 levels remained significantly associated with subclinical atherosclerosis, and odds ratios for age >44 years and IL6 >6.6 pg/mL were 7 (IC95% 1.3-40,  $p$  0.02) and 9 (IC95% 1-85,  $p$  0.04) respectively. When IL6 was not included in the model, rDNA was significant ( $p$  0.03) along with age ( $p$  0.02) (data not shown). In the third multivariate model including Framingham risk score, waist-hip ratio ( $p$  0.03), time from HIV diagnosis ( $p$  0.03) and IL6 ( $p$  0.05) levels remained significantly associated with subclinical atherosclerosis (data not shown in the table)

Framingham risk score was higher in patients with subclinical atherosclerosis (median 5% vs 1%,  $p$  0.001).

### **Factors Associated with CIMT**

Variables that were significantly associated with higher CIMT in univariate analysis were older age (p 0.01), blood pressure (p 0.05) and time from HIV diagnosis (p 0.04) (table 3). Correlation coefficients between age and time from HIV diagnosis and CIMT were 0.31 (IC95% 0.12-0.52) and 0.24 (IC95% 0.02-0.44) respectively. MT and inflammatory markers were not associated with CIMT. There was a non significant trend to the association between CIMT and male sex (p 0.09) and low CD4+/CD8+ ratio (p 0.14). When waist-hip ratio was managed as a quantitative variable, there was a significant correlation with CIMT (0.22, IC95% 0.01-0.47, p 0.05).

Multivariate analysis including age, sex, CVRF and significant variables in the univariate analysis showed that only age remained significantly associated with CIMT (p 0.02).

### **Factors Associated With rDNA and IL6 levels**

Since rDNA and sCD14 were associated with subclinical atherosclerosis, determination of possible confounding factors that could impact on them is important.

There was no significant difference between basal characteristics of patients (sociodemographic, vascular risk factors and HIV related variables) according to the rDNA presence or the IL 6 level, with the exception of a lower prevalence of overweight patients in the group of patients with rDNA (35% vs 60%, p 0.03), and a higher number of patients receiving PI in the group of patients with IL6 <6.6 pg/mL (35% vs 17%, p 0.06).

Figure 1 shows the relationship between the rDNA presence or the IL6 level. Patients with MT (rDNA) had a median IL6 of 34 pg/mL (P<sub>25-75</sub>, 17-51), whereas patients without MT had median IL6 of 4.94 pg/mL (P<sub>25-75</sub>, 2.4–6.2, p 0.001).

## **Discussion**

Our study shows that 20% of well-controlled HIV patients with a very low Framingham risk (1% at 10 years) have subclinical carotid atherosclerosis, a systemic atherosclerosis marker and cardiovascular risk. The two main risk factors have been age and inflammation (IL6).

Cohort studies have suggested that cardiovascular diseases are more common in people living with HIV infection, and this can not be completely explained by a higher prevalence of traditional CVRF such as HBP, diabetes, smoking or dyslipidaemia (1). There seems to be some factors directly related with HIV (such as low level HIV replication) or indirectly related (such as MT) play a role. Anyway, inflammation is suspected as the main mechanism underlying the atherosclerosis development, as in general population.

To better define the inflammation impact on atherosclerosis development in HIV-infected patients clinical studies should now focus on low cardiovascular risk patients, and confounding variables have to be controlled as strictly as possible. In unselected HIV patients, CIMT is strongly associated with traditional CVRF [11]. Patients followed in our clinic have a high CVRF, hepatitis C, drug use and smoking prevalence, so recruitment was difficult but in the end we were able to include a group of middle aged patients with a median 1% 10 year Framingham risk score and lower than 8% in all cases. Mild smoking and hypercholesterolemia were allowed to get a significant sample. Additionally, we tried to control for other confounders by

excluding patients with chronic hepatitis, renal failure (estimated glomerular filtrate < 60 ml/min) and drugs intake (including statins), and recording variables that may influence biomarkers levels as physical activity or weight.

Given the restrictive inclusion criteria we have found lower CIMT values than other studies (11-20), and only in 3 patients were above 0.8 mm, the usual cutoff for the definition of “pathological” CIMT. More surprising was the finding of a atherosclerotic plaque prevalence of 21% in these low-risk patients. This result is of great importance since the presence of plaque independently predicts the risk of cardiovascular events. In the general population, patients with low Framingham score without carotid plaque have an almost nil cardiovascular risk. However, for low Framingham risk patients with carotid plaque cardiovascular risk is 10% at 8 years, a value that would put them close to medium Framingham risk (8). Recent data on HIV patients with asymptomatic carotid plaque suggest that this risk could be even greater than 10% and at a shorter term (*Janjua SA et al, CROI 2016, abstract 640*), and the reason could be that atherosclerotic plaques associated with HIV infection are more frequently “vulnerable”, that is, non calcified, softer and more prone to rupture (21).

Current guidelines for CVRF management of patients with HIV establish strategies primarily based on cardiovascular risk estimated by equations such as the Framingham risk score and ACCC/AHA CVD risk calculator (22). The point is that these scores may underestimate the real risk in the HIV population as has been suggested by cohort studies (23), and some patients currently considered as low risk have actually a moderate risk and should be considered for a more aggressive control of cardiovascular risk factors. The use of statins as primary prevention of cardiovascular events in patients at low risk is not currently recommended, however, these drugs have been shown to reduce non calcified coronary plaque volume and to slow progression of CIMT (24,25), so, in the absence of conclusive clinical data,

statins use in HIV patients with subclinical atherosclerosis based on the ultrasound carotid plaque composition need to be studied.

Our second main finding is that, in patients without CVRF, atherosclerosis development depends on age and inflammation. Age is the main risk factor in most studies, so atherosclerosis should be considered as part of normal aging, although it appears at earlier ages in HIV patients. In our results inflammation is also strongly associated with subclinical atherosclerosis in the absence of classical CVRF, so patients with IL6 levels > 6.6 pg/mL have a risk 9 fold greater cardiovascular risk. The relationship between IL6, sCD14 and morbimortality (including cardiovascular disease) has been assessed in animal models, cohort studies and clinical trials, although it does not apply exclusively to patients with HIV infection (26-28). MT seems to favour clinical progression even in HIV elite controllers (patients who spontaneously control viral load without ART) (29). In our study, the association between rDNA and subclinical atherosclerosis disappeared in multivariate analysis, suggesting that rDNA could raise IL6 levels (most patients with higher IL6 have MT). The rationale for a high IL6 level in absence of rDNA could be that MT is intermittent, translocation of bacterial products other than rDNA or mechanisms unrelated to MT such as viral replication in reservoirs, the role of plasma low-grade HIV viraemia on inflammation seems to be less important (30).

Our study has several limitations. We included smokers, but the percentage of current smokers was very low (12%) and they were light smokers (less than 5 cigarettes/day). On the other hand, the cumulative pack-years in patients with previous smoking were relatively low (8 pack-years). Smoking was slightly more frequent in patients with subclinical atherosclerosis but the association was not significant. Another limitation is the possible relationship between PI and subclinical atherosclerosis. Our design was not prospective and we have not recorded the cumulative exposition to PI. Other authors have investigated this relationship with

discordant results, probably because not all PI are equal (in fact, new PI are not clearly associated with cardiovascular events), and the debate about this association remains (12,31). Finally, we did not measure other variables that could be important such as use of abacavir, history of low level viraemias, sCD163 (strongly associated with arterial inflammation) (32) or protective citoquines such as interleukin-10, adiponectin or interleukin-27 (33).

Currently rates of cardiovascular disease in patients with HIV infections are dropping, probably as a result of a better control of CVRF, the use of more lipid friendly ART and the starting of ART at high CD4+ levels (34). However, by now no treatment has been able to fully normalize the inflammatory markers, so the risk of cardiovascular disease (and other comorbidities) will likely continue increased in patients with HIV. The new role of integrase inhibitors as drugs of choice for naive patients in recent guidelines could help because they seem to have a better inflammatory profile than PI or non nucleoside reverse transcriptase inhibitors, although data are not conclusive (35-36).

In conclusion, atherosclerosis is a major concern in middle aged HIV patients, even if they do not have vascular risk factors. Atherosclerosis can be demonstrated in subclinical phases with a quick, simple, non invasive test as carotid ultrasound. Given the cumulative evidence relating the findings of carotid ultrasound with cardiovascular events, guidelines should consider the inclusion of prophylaxis recommendations not solely based on scores. HIV infected patients with a low theoretical risk could be classified in 2 subgroups, those with normal carotid ultrasound and those with subclinical atherosclerosis, with very different risk of cardiovascular morbidity.

Since atherosclerosis in patients without vascular risk factors is related to age and inflammation, it is mandatory to insight into the mechanisms that produce inflammation (mainly microbial translocation) and the search for anti-inflammatory



treatment strategies. Meanwhile, the behaviour of ART on markers of inflammation may be considered when setting priorities among the therapeutic options.

**Acknowledgement:** This work was supported by a grant from “Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL - Fundación FISABIO)” and Gilead Sciences (Fellowship Program).

### **Bibliography**

1. Triant VA, Lee H, Hadigan C, Grinspoon SK. Increased acute myocardial infarction rates and cardiovascular risk factors among patients with human immunodeficiency virus disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Jul;92(7):2506-2512.
2. Wada NI, Jacobson LP, Margolick JB et al. The effect of HAART-induced HIV suppression on circulating markers of inflammation and immune activation. *AIDS.* 2015 Feb 20;29(4):463-471
3. Tenorio AR, Zheng Y, Bosch RJ et al. Soluble markers of inflammation and coagulation but not T-cell activation predict non-AIDS-defining morbid events during suppressive antiretroviral treatment. *J Infect Dis.* 2014 Oct 15;210(8):1248-1259.
4. Trøseid M1, Manner IW, Pedersen KK, Haissman JM, Kvale D, Nielsen SD. Microbial translocation and cardiometabolic risk factors in HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2014 Jun;30(6):514-522.
5. Marchetti G, Tincati C, Silvestri G. Microbial translocation in the pathogenesis of

HIV infection and AIDS. Clin Microbiol Rev. 2013 Jan;26(1):2-18.

6. Jiang W1, Lederman MM, Hunt P et al. Plasma levels of bacterial DNA correlate with immune activation and the magnitude of immune restoration in persons with antiretroviral-treated HIV infection. J Infect Dis. 2009 Apr 15;199(8):1177-1185.

7. Sandler NG, Wand H, Roque A et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. J Infect Dis. 2011 Mar 15;203(6):780-790.

8. Polak JF, Pencina MJ, Pencina KM, O'Donnell CJ, Wolf PA D'Agostino RB. Carotid-wall intima-media thickness and cardiovascular events. N Engl J Med. 2011 Jul 21;365(3):213-221.

9. Bots ML, Evans GW, Riley WA, Grobbee DE. Carotid intima-media thickness measurements in intervention studies: design options, progression rates and sample size consideration: a point of view. Stroke 2003; 34(12): 2985-2994

10. Such, Francés, Muñoz, Zapater, Casellas, Cifuentes et al. Detection and identification of bacterial DNA in patients with cirrosis and culture-negative, nonbneutrocytic ascites. Hepatol 2002; 36: 135-140

11. Stein JH, Brown TT, Ribaud HJ et al. Ultrasonographic measures of cardiovascular disease risk in antiretroviral treatment-naive individuals with HIV infection. AIDS. 2013 Mar 27;27(6):929-937.

12. Currier JS, Kendall MA, Zackin R, Henry WK, Alston-Smith B, Torriani FJ et al. Carotid artery intima-media thickness and HIV infection: traditional risk factors overshadow impact of protease inhibitor exposure. AIDS. 2005 Jun 10;19(9):927-

933.

13. Kelesidis T, Kendall MA, Yang OO, Hodis HN, Currier JS. Biomarkers of microbial translocation and macrophage activation: association with progression of subclinical atherosclerosis in HIV-1 infection. *J Infect Dis.* 2012 Nov 15;206(10):1558-1567.

14. Baker JV, Henry WK, Patel P et al. Progression of carotid intima-media thickness in a contemporary human immunodeficiency virus cohort. *Clin Infect Dis.* 2011 Oct;53(8):826-835.

15. Hsue PY, Lo JC, Franklin A et al. Progression of atherosclerosis as assessed by carotid intima-media thickness in patients with HIV infection. *Circulation.* 2004 Apr 6;109(13):1603-1608.

16. Hsue PY, Scherzer R, Hunt PW et al. Carotid Intima-Media Thickness Progression in HIV-Infected Adults Occurs Preferentially at the Carotid Bifurcation and Is Predicted by Inflammation. *J Am Heart Assoc.* 2012 Apr;1(2). pii: jah3-e000422.

17. Masiá M, Bernal E, Padilla S et al. A pilot randomized trial comparing an intensive versus a standard intervention in stable HIV-infected patients with moderate-high cardiovascular risk. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Sep;64(3):589-598.

18. Albuquerque VM, Zírpoli JC, de Barros Miranda-Filho D et al. Risk factors for subclinical atherosclerosis in HIV-infected patients under and over 40 years: a case-control study. *BMC Infect Dis.* 2013 Jun 18;13:274

19. Merlini E, Luzi K, Suardi E et al. T-cell phenotypes, apoptosis and inflammation in HIV+ patients on virologically effective cART with early atherosclerosis. *PLoS One*. 2012;7(9):e46073
20. Piconi S, Parisotto S, Rizzardini G et al. Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-infected antiretroviral-naive or treated individuals. *AIDS*. 2013 Jan 28;27(3):381-389.
21. Post WS, Budoff M, Kingsley L et al. Associations between HIV infection and subclinical coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med*. 2014 Apr 1;160(7):458-67.
22. EACS, European AIDS Clinical Society, Guidelines vs 8.2, january 2017 ([www.eacsociety.org](http://www.eacsociety.org)).
23. Law MG, Friis-Møller N, El-Sadr WM et al. The use of the Framingham equation to predict myocardial infarctions in HIV-infected patients: comparison with observed events in the D:A:D Study. *HIV Med*. 2006;7:218-230.
24. Longenecker CT, Eckard AR, McComsey GA. Statins to improve cardiovascular outcomes in treated HIV infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2016 Feb;29(1):1-9.
25. Lo J, Lu MT, Ihenachor EJ et al. Effects of statin therapy on coronary artery plaque volume and high-risk plaque morphology in HIV-infected patients with subclinical atherosclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet HIV*. 2015 Feb;2(2):e52-63.
26. Silvestri G1, Sodora DL, Koup RA et al. Nonpathogenic SIV infection of sooty mangabeys is characterized by limited bystander immunopathology despite chronic high-level viremia. *Immunity*. 2003 Mar;18(3):441-452.

27. Nordell AD, McKenna M, Borges ÁH et al. Severity of cardiovascular disease outcomes among patients with HIV is related to markers of inflammation and coagulation. *J Am Heart Assoc.* 2014 May 28;3(3):e000844.
28. Schouten J, Wit FW, Stolte IG et al. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between HIV-infected and uninfected individuals: the AGEHIV cohort study. *Clin Infect Dis.* 2014 Dec 15;59(12):1787-1797.
29. León A, Leal L, Torres B et al. Association of microbial translocation biomarkers with clinical outcome in controllers HIV-infected patients. *AIDS.* 2015 Mar 27;29(6):675-681.
30. Reus S, Portilla J, Sánchez-Payá J et al. Low-level HIV viremia is associated with microbial translocation and inflammation. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2013 Feb 1;62(2):129-134.
31. Friis-Møller N, Thiébaud R, Reiss P et al. Predicting the risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients: the data collection on adverse effects of anti-HIV drugs study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010 Oct;17(5):491-501.
32. Subramanian S1, Tawakol A, Burdo TH et al. Arterial inflammation in patients with HIV. *JAMA.* 2012 Jul 25;308(4):379-386.
33. Desvarieux M, Boccara F, Meynard JL et al. Infection duration and inflammatory imbalance are associated with atherosclerotic risk in HIV-infected never-smokers independent of antiretroviral therapy. *AIDS.* 2013 Oct 23;27(16):2603-2614.

34. Klein DB, Leyden WA, Xu L et al. Declining relative risk for myocardial infarction among HIV-positive compared with HIV-negative individuals with access to care. *Clin Infect Dis*. 2015 Apr 15;60(8):1278-1280.

35. Hileman CO, Kinley B, Scharen-Guivel V et al. Differential Reduction in Monocyte Activation and Vascular Inflammation With Integrase Inhibitor-Based Initial Antiretroviral Therapy Among HIV-Infected Individuals. *J Infect Dis*. 2015 Aug 1;212(3):345-354.

36. Kelesidis T, Tran TT, Stein JH et al. Changes in Inflammation and Immune Activation With Atazanavir-, Raltegravir-, Darunavir-Based Initial Antiviral Therapy: ACTG 5260s. *Clin Infect Dis*. 2015 Aug 15;61(4):651-660.



**Table 1. Characteristics of patients and risk factors for subclinical atherosclerosis in HIV patients with low Framingham risk (univariate analysis)**

Variable	Subclinical atherosclerosis			p-value
	Total N=84	Yes N=18	No N=66	
<b>Sociodemographic variables</b>				
Age ≥ 44 (years) *	42 (50%)	15 (83%)	27 (41%)	0.001
Sex (male)	63 (75%)	16 (90%)	47 (71%)	0.13
Risk factor for HIV				0.88
Homosexual	48 (57%)	10 (56%)	38 (58%)	
Heterosexual	29 (35%)	6 (33%)	23 (35%)	
Intravenous drug use	5 (6%)	2 (11%)	3 (5%)	
Origin country: Spain	73 (87%)	17 (94%)	56 (85%)	0.29
<b>Vascular risk factors</b>				
BMI ≥25 kg/m <sup>2</sup>	42 (50%)	9 (50%)	33 (50%)	1.0
Waist-hip ratio ≥ 0.92 *	39 (46%)	13 (72%)	26 (39%)	0.01
SBP ≥ 133 or DBP ≥ 80 mmHg ***	24 (29%)	8 (44%)	16 (24%)	0.09
25-OH-Vitamin D < 30 ng/mL	76 (91%)	17 (94%)	59 (89%)	0.52
Total cholesterol > 200 mg/dL	26 (31%)	6 (33%)	20 (30%)	0.81
Abnormal fasting glucose	2 (2%)	0 (0%)	2 (3%)	NC
Smoking	43 (51%)	12 (67%)	31 (47%)	0.14
Current smokers	10 (12%)	4 (22%)	6 (9%)	
Former smokers	33 (39%)	8 (44%)	25 (38%)	
Family history of cardiovascular disease	41 (49%)	12 (67%)	29 (44%)	0.09
Sedentarism	49 (58%)	12 (67%)	37 (56%)	0.42
<b>HIV related variables</b>				
C stage	16 (19%)	4 (22%)	12 (18%)	0.69
CD4+ nadir ≤ 122/uL **	21 (25%)	7 (39%)	14 (21%)	0.13
Current CD4+ ≤ 515/uL **	21 (25%)	7 (39%)	14 (21%)	0.13
CD4+/CD8+ rate < 0.67 **	21 (25%)	6 (33%)	15 (23%)	0.36

Time from HIV diagnosis $\geq 12$ years *	40 (48%)	13 (72%)	27 (41%)	0.02
Antiretroviral treatment				0.30
Non nucleoside transcriptase inhibitors	58 (69%)	15 (83%)	43 (65%)	
Protease inhibitors	22 (26%)	3 (18%)	19 (29%)	
Integrase inhibitors	17 (20%)	6 (33%)	11 (17%)	
<b>Other</b>				
Framingham risk score, <i>median</i> ( $P_{25-75}$ )	1 (0.5 – 4)	5 (1-7)	1 (0.5 – 3)	0.001
CIMT, <i>mean</i> ( <i>SD</i> )	0.5595 (0.101)	0.607 (0.17)	0.547 (0.07)	0.03
<b>Biomarkers</b>				
rDNA	34 (41%)	11 (61%)	23 (35%)	0.04
sCD14 $\geq 12.7$ *, ng/mL	42 (50%)	10 (56%)	32 (49%)	0.60
IL6 $\geq 6.6$ *, pg/mL	42 (50%)	14 (78%)	28 (42%)	0.01
TNF- $\alpha$ $\geq 76$ *, pg/mL	43 (51%)	9 (50%)	34 (52%)	0.91

\* Median value, \*\* Percentile 25 value, \*\*\* Percentile 75 value

BMI: body mass index. SBP: systolic blood pressure. DBP: diastolic blood pressure. NC: not calculable.



**Table 2: Quantification of the association between risk factors and subclinical atherosclerosis.**

**Univariate and multivariate analysis**

	Univariate		Multivariate (excluding biomarkers)		Multivariate	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC95%)	p	OR (IC 95%)	p
<b>Biomarkers</b>						
rDNA	2.9 (1 – 8.6)	0.04	-		1.1 (0.2 – 7.8)	0.95
IL6 ≥ 6.6 pg/mL *	4.8 (1.4 – 16.0)	0.01	-		9.3 (1.0 – 85)	0.049
<b>Sociodemographic variables</b>						
Age ≥ 44 years *	7.2 (1.9 – 27.4)	0.001	5.2 (1.0-25)	0.03	7.3 (1.3 – 40)	0.02
Sex (male)	3.2 (0.6 – 15.4)	0.13	2.0 (0.3-13)	0.47	1.4 (0.2 – 11)	0.72
<b>Vascular risk factors</b>						
BMI ≥ 25 kg/m	1 (0.4 – 2.8)	1.0	0.5 (0.1-2.5)	0.41	0.5 (0.1 – 2.5)	0.36
Waist-hip ratio ≥ 0.92 *	4 (1.3 – 12.6)	0.01	3.6 (0.7-18)	0.12	5.1 (0.8 – 32)	0.08
SBP ≥ 133 or DBP ≥ 80 mmHg ***	2.5 (0.8 – 7.4)	0.09	1.2 (0.2-6.0)	0.85	1.6 (0.2 – 10)	0.65
Total cholesterol > 200 mg/dL	1.2 (0.4 – 3.5)	0.81	0.5 (0.1-2.1)	0.35	0.6 (0.1 – 3.4)	0.56
Smoking (current or previous)	2.3 (0.8 – 6.7)	0.14	2.5 (0.6-11)	0.22	2.1 (0.4 – 12)	0.42
Family history of cardiovascular disease	2.6 (0.9 – 7.6)	0.09	1.0 (0.2-4.3)	0.96	0.7 (0.1 – 3.7)	0.67
Sedentarism	1.6 (0.5 – 4.7)	0.42	1.0 (0.2-5.3)	0.96	0.8 (0.1 – 5.3)	0.83
<b>HIV related variables</b>						
CD4+ nadir ≤ 122/uL **	2.4 (0.8 – 7.2)	0.13	1.0 (0.3-4.9)	0.9	0.9 (0.1 – 5.4)	0.89
Current CD4+ ≤ 515/uL **	2.4 (0.8 – 7.2)	0,13	2.9 (0.5-16)	0.21	3.0 (0.4 – 21)	0.27
Time from HIV diagnosis ≥ 12 ys *	3.8 (1.2 – 11.8)	0.02	3.0 (0.5-17)	0.20	0.7 (0.1 – 3.7)	0.67

\* Reference value: median, \*\* Reference value: percentile 25, \*\*\* Reference value: percentile 75

BMI: body mass index. SBP: systolic blood pressure. DBP: diastolic blood pressure

**Table 3: Risk factors for increased carotid intima-media thickness. Univariate****analysis**

	Mean (SD), mm	p
<b>Biomarkers</b>		
rDNA positive		0.47
Yes	0.569 (0.13)	
No	0.552(0.08)	
sCD14 $\geq$ 12.7 ng/mL *		0.87
Yes	0.561 (0.09)	
No	0.558 (0.11)	
IL6 $\geq$ 6.6 pg/mL *		0.54
Yes	0.566 (0.12)	
No	0.553 (0.08)	
TNF- $\alpha$ $\geq$ 76 pg/mL *		0.27
Yes	0.572 (0.12)	
No	0.547 (0.08)	
<b>Sociodemographic characteristics</b>		
Age $\geq$ 44 years *		0.01
Yes	0.588 (0.12)	
No	0.531 (0.07)	
Sex (male)		0.09
Yes	0.570 (0.11)	
No	0.527 (0.07)	
Homosexual		0.55
Yes	0.565 (0.08)	
No	0.552 (0.13)	
<b>Vascular risk factors</b>		
BMI $\geq$ 25 kg/m <sup>2</sup>		0.52
Yes	0.567 (0.09)	
No	0.552 (0.11)	
Waist-hip ratio $\geq$ 0.92 *		0.39

Yes	0.570 (0.09)	
No	0.551 (0.11)	
SBP $\geq$ 133 mmHg or DBP $\geq$ 80 mmHg ***		0.05
Yes	0.594 (0.10)	
No	0.546 (0.10)	
25-OH-Vitamin D < 30 ng/mL		0.80
Yes	0.560 (0.10)	
No	0.551 (0.09)	
Total cholesterol > 200mg/dL		0.25
Yes	0.579 (0.14)	
No	0.551 (0.08)	
Abnormal fasting glucose		0.77
Yes	0.580 (0.02)	
No	0.559 (0.10)	
Smoking (current or previous)		0.91
Yes	0.561 (0.12)	
No	0.558 (0.08)	
Family history of cardiovascular disease		0.55
Yes	0.553 (0.11)	
No	0.566 (0.09)	
Sedentarism		0.96
Yes	0.560 (0.11)	
No	0.559 (0.09)	
<b>HIV related variables</b>		
C stage		0.25
Yes	0.586 (0.09)	
No	0.553 (0.10)	
CD4+ nadir $\leq$ 122/uL **		0.21
Yes	0.584 (0.14)	
No	0.552 (0.09)	
Current CD4+ $\leq$ 515/uL **		0.78

Yes	0.565 (0.14)	
No	0.558 (0.08)	
CD4+/CD8+ ratio < 0.67 **		0.14
Yes	0.588 (0.14)	
No	0.550 (0.09)	
Time from HIV diagnosis ≥ 12 years *		0.04
Yes	0.584 (0.11)	
No	0.538 (0.08)	
Protease inhibitors treatment		0.24
Yes	0.581 (0.13)	
No	0.552 (0.09)	

---

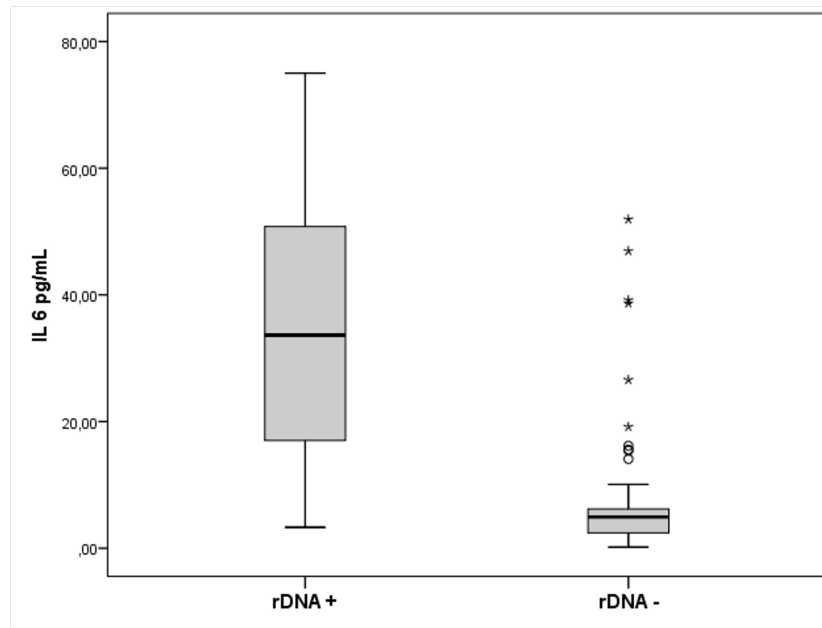
BMI: body mass index. SBP: systolic blood pressure. DBP: diastolic blood pressure

\* Reference value: median, \*\* Reference value: percentile 25, \*\*\* Reference value: percentile

75



**FIGURE 1. Relationship between IL6 levels and microbial translocation (rDNA)**



IL6: interleucin 6. rDNA+: presence of DNA-ribosomal 16S. rDNA-: absence of DNA-ribosomal 16S

